

**ZENTRALE UND SYSTEMISCHE VERÄNDERUNGEN
NACH ZEREBRALER ISCHÄMIE BEI DER
MONGOLISCHEN WÜSTENRENNMAUS
(MERIONES UNGUICULATUS)**

Kai-Olav Weber
1989

Disbui. München
1989

Aus dem Institut für Chirurgische Forschung
der Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. Dr. h.c. W. Brendel
Arbeitsgruppe: Experimentelle Neurochirurgie
Prof. Dr. med. A. Baethmann
Arbeit angefertigt unter der Leitung von
Prof. Dr. med. O. Kempfski

Vorgelegt über den
Lehrstuhl für Allgemeine Pathologie und Neuropathologie
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. med. vet. E. Dahme

ZENTRALE UND SYSTEMISCHE VERÄNDERUNGEN NACH ZEREBRALER ISCHÄMIE
BEI DER MONGOLISCHEN WÜSTENRENNMAUS (MERIONES UNGUICULATUS)

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von Kai-Olav Weber
aus
Augsburg
1989

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. M. Rüsse

Referent: Univ.-Prof. Dr. E. Dahme

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. Dr.h.c. G. Dirksen

Tag der Promotion: 24. Februar 1989

"WHEEL-RUNNING
IS
HEAL-RUNNING"



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554801_0006

INHALTSVERZEICHNIS

1. EINLEITUNG

1.1	Klinische Bedeutung der zerebralen Ischämie	6
1.2	Experimentelle Ansätze	6
1.3	Problematik	8
1.4	Ziel der Arbeit	9

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1	Versuchstiere	10
2.1.1	Spontane Krampfneigung	10
2.1.2	Zucht	11
2.1.3	Haltung	11
2.1.4	Auswahlkriterien für Versuchsverwendung	11
2.2	Versuchsanordnung	11
2.2.1	Chirurgisches Vorgehen	11
2.2.2	Ischämie	12
2.2.3	Narkose	12
2.3	Versuchsgruppen	13
2.4	Versuchsanordnung	13
2.4.1	Käfigtiere	13
2.4.2	Laufradtiere	15
2.4.3	Alternierende Käfighaltung	17
2.5	Einfluß von Futter- und Wasserentzug	19
2.5.1	Nicht-ischämische Tiere	19
2.5.2	Ischämische Tiere	19
2.6	Analytische Methoden	19
2.6.1	Körpergewicht	19
2.6.2	Futter- und Wasseraufnahme	20
2.6.3	Nageaktivität	20
2.6.4	Laborparameter	20
2.6.4.1	Technik der Blutentnahme	20
2.6.4.2	Hämatokrit	20
2.6.4.3	Blutzucker	20
2.6.4.4	Plasmaosmolarität	21
2.6.4.5	Blutdruck	21
2.7	Spontanaktivität	21

2.8	Histologie	23
2.8.1	Fixierung des Hirngewebes	23
2.8.1.1	Perfusionsfixation	23
2.8.1.2	Fixationslösung	24
2.8.1.3	Anfertigung der histologischen Präparate	24
2.8.1.4	Histologische Auswertung	24
2.9	Korrosionspräparate des arteriellen Gefäßstamms des Kopfes	29
2.10	Statistische Methoden	29

3. ERGEBNISSE

3.1	Versuchstiere	31
3.1.1	Spontane Anfallsdisposition	31
3.1.2	Gefäßarchitektur	31
3.2	Versuchsgruppen mit ausschließlicher Käfighaltung	33
3.2.1	Überlebensrate- und zeit	33
3.2.2	Körpergewicht	35
3.2.2.1	15min Ischämie	35
3.2.2.2	20min Ischämie	39
3.2.2.3	Nicht-ischämische Tiere	39
3.2.2.4	Nahrungsaufnahme	42
3.2.2.5	Wasseraufnahme	42
3.2.2.6	Bedeutung des Körpergewichts für die Überlebenszeit	44
3.2.2.7	15min Ischämie unter verschiedenen präischämischen Fütterungsbedingungen	44
3.2.3.	Laborbefunde	51
3.2.3.1	Hämatokrit und Plasmaosmolarität	51
3.2.3.1.1	Nicht-ischämische Versuchsgruppen	51
3.2.3.1.2	15min Ischämie	51
3.2.3.2	Blutglucose	54
3.2.3.3	Blutdruck	54
3.3	Versuchsgruppen mit ausschließlicher Laufkäfighaltung	59
3.3.1	Überlebensrate und -zeit	59
3.3.2	Körpergewicht	62
3.3.2.1	15min Ischämie	62
3.3.2.2	20min Ischämie	62
3.3.3	Spontanaktivität im Laufrad	62
3.3.3.1	15min Ischämie	62

3.3.3.1.1	24h-Aktivität	62
3.3.3.1.2	Bedeutung der Anfallsneigung	68
3.3.3.1.3	Zirkadiane Rhythmik	68
3.3.3.2	20min Ischämie	71
3.4	Alternierende Haltungsformen	71
3.4.1	Haltung in Laufradkäfigen vor Ischämie	71
3.4.2	Haltung in Laufradkäfigen nach Ischämie	71
3.4.3	Überlebensrate	74
3.4.4	Körpergewicht	74
3.4.5	Laborparameter	74
3.4.5.1	Blutzucker	74
3.4.6	Spontanaktivität im Laufrad	77
3.4.6.1	Vor der Ischämie (L/K-Gruppe)	77
3.4.6.2	Nach der Ischämie (K/L-Gruppe)	77
3.5	Nageaktivität	77
3.5.1	Vor der Ischämie	77
3.5.2	Nach der Ischämie	79
3.6	Histologische Auswertung	79
3.6.1	Auswertung der histologischen Präparate von scheinoperierten Gerbils	79
3.6.1.1	Bestimmung der Nervenzellzahl von Kontrolltieren	79
3.6.1.2	Validierung der Zählmethode	79
3.6.1.3	Kapillaren und Glia	81
3.6.1.4	Neuropil	84
3.6.2	Bestimmung der Nervenzellzahl ischämischer Tiere	85
3.6.2.1	15min Ischämie	85
3.6.2.1.1	Überlebende vs. moribunde Tiere	86
3.6.2.1.2	Käfig- vs. Laufkäfigtiere	91
3.6.2.2	20min Ischämie	95
3.6.2.3	15 und 20min Ischämie: Vergleichende Betrachtung	95
3.6.2.3.1	Käfighaltung	95
3.6.2.3.2	Laufkäfighaltung	96
3.7	Zusammenfassung der Ergebnisse	99

4. DISKUSSION

4.1	Methodik	100
4.1.1	Auswahl des Versuchstieres	100
4.1.1.1	Bedeutung der gefäßanatomischen Besonderheiten	100

4.1.1.2	Altersbedingte Veränderungen	101
4.1.2	Bedeutung der Krampfneigung	101
4.1.2.1	Alter	102
4.1.2.2	Gefäßarchitektur	103
4.1.2.3	Genetische Faktoren	103
4.1.2.4	Metabolische Faktoren	103
4.1.2.5	Anfallsneigung und Ischämie	104
4.1.3	Anästhesie und Körpertemperatur	105
4.2	Systemische Veränderungen	107
4.2.1.	Aufbau und physiologische Bedeutung des Hippocampus	109
4.2.1.1	Anatomie	109
4.2.1.2	Funktion	111
4.2.2	Ursachen des postischämischen Körpergewichtsverlusts	112
4.2.2.1	Einfluß der Restriktion von Trinkwasser	112
4.2.2.2	Einfluß der Restriktion von Futter bzw. Futter und Wasser	113
4.2.3	Ischämie-induzierte Einflüsse	114
4.2.3.1	Veränderungen des Stoffwechsels nach zerebraler Ischämie	115
4.2.3.2	Störungen des Flüssigkeitshaushaltes	116
4.2.3.3	Zentralbedingte Störungen der Nahrungsaufnahme	117
4.3	Ischämiebedingte Veränderungen der Spontanaktivität	122
4.4	Ischämiebedingte Veränderungen des Hippocampus	123
4.4.1	Geschichtlicher Hintergrund	123
4.4.2	Exzitotoxine	126
4.4.3	Molekulare Mechanismen des exzitotoxischen Zellschadens	127
4.4.4	Selektive Vulnerabilität der einzelnen Sektoren	129
4.4.4.1	CA1-Sektor	129
4.4.4.2	CA2-Sektor	130
4.4.4.3	CA3-Sektor	130
4.4.4.4	CA2- und 3-Sektor	131
4.5	Physische Aktivität als protektiver Faktor	132
4.5.1	Physische Effekte vermehrter motorischer Aktivität	134
4.5.2	Endogene Opiate und physische Aktivität	135
4.5.2.1	Intrahippocampale Lokalisation von Enkephalinen	137
4.5.2.2	Neurophysiologische Funktion von Enkephalinen	137
4.5.2.3	Enkephalinerge Neuroprotektion	138

4.5.2.4	Endogene Opiate und Krampfaktivität	138
4.6	Hypothese einer aktivitätsinduzierten, opioid- vermittelten Protektion nach zerebraler Ischämie	138
4.6.1	Bedeutung der körperlichen Aktivität als prophylaktischer oder therapeutischer Faktor	139
5.	AUSBLICK	142
6.	ZUSAMMENFASSUNG	143
6.	SUMMARY	145
7.	LITERATURVERZEICHNIS	147
8.	ABSCHLIEßENDE BEMERKUNG	170
9.	LEBENS LAUF	171

1. EINLEITUNG

1.1 Klinische Bedeutung der zerebralen Ischämie

Störungen der zerebralen Durchblutung stellen eine häufige Todesursache dar oder führen bei den betroffenen Patienten zu irreversiblen oder nur teilweise reversiblen neurologischen Ausfällen. Allein in Deutschland erleiden mehr als 200.000 Menschen jährlich einen Schlaganfall. In ungefähr 50% der Fälle verläuft dieses Ereignis für die Patienten tödlich (Poeck 1977).

Manifestationen der gestörten zerebralen Zirkulation sind dabei entweder auf bestimmte Areale des Hirngewebes begrenzte, fokale Ischämien oder eine das gesamte Gehirn betreffende, globale zerebrale Ischämie. In mehr als 75% aller Fälle führen Verengungen oder Verschlüsse von extra- oder intrakraniellen Hirnarterien zum klinischen Bild des Schlaganfalls, wobei die zerebrale Ischämie auf das Versorgungsgebiet des Gefäßstamms beschränkt bleibt (Garcia 1975). Entsprechend der Anfallsdauer und der Reversibilität der neurologischen Symptomatik lassen sich 4 Stadien des Schlaganfalls (asymptomatisches Stadium, Transiente ischämische Attacken (TIA), progredienter und kompletter Schlaganfall) unterscheiden.

Zu einer **globalen** zerebralen Ischämie hingegen kommt es bei schweren systemischen Störungen des Blutkreislaufs wie z.B. nach Herzstillstand, bei schweren Reizleitungsstörungen wie Kammerflimmern oder bei Herzklappeninsuffizienz. Die als Synkope bezeichnete Form des Schlaganfalls geht mit einem plötzlichen Bewußtseinsverlust als Folge des Abfalls des zerebralen Blutflusses unter kardiopulmonaler Dysfunktion einher. Obwohl dabei die Blutversorgung für das gesamte Gehirn unterbrochen ist, kommt es zunächst nur in **selektiv vulnerablen** Gebieten wie z.B. dem Sommerschen Sektor des Hippocampus oder den Schichten 2, 4 und 5 der Hirnrinde, zur Schädigung des Gewebes. Die Ursachen der selektiven Vulnerabilität sind bislang nicht geklärt. Diskutiert wird eine Freisetzung exzitotoxisch wirksamer Neurotransmitter sowie gefäßanatomische und metabolische Besonderheiten in diesen Arealen.

1.2 Experimentelle Ansätze

Weniger Klarheit als über die ätiologischen Faktoren, die zum klinischen Bild des Schlaganfalls führen, besteht über die pathophysiologischen Abläufe im betroffenen Gewebsareal. Es sind deshalb eine Reihe unterschiedlicher experimenteller Modelle etabliert worden, um die Folgen einer fokalen oder globalen zerebralen Ischämie genauer untersuchen zu können. Da das Krankheitsbild des spontanen Hirnschlags

beim Tier ein äußerst seltenes Ereignis ist, werden für die Untersuchungen am Versuchstier zwei verschiedene Methoden zur temporären oder permanenten Unterbrechung eines intakten Hirnkreislaufs verwendet:

- (1) Die Okklusion einer versorgenden Arterie mittels Ligatur o.ä.
- (2) die Manipulation der Hämodynamik durch Hypotension oder Emboli.

Untersuchung zur fokalen Ischämie werden an einer Vielzahl von Tierspezies (Primaten, Hunde, Katzen, Ratten) durchgeführt. Besondere Bedeutung hat dabei der Verschuß der A. cerebri media als Korrelat des klinischen Bildes beim Menschen erlangt.

Auch die experimentellen Modelle einer globalen zerebralen Ischämie sind an zahlreichen großen (Primaten, Hunde, Katzen) und kleinen Labortieren (Kaninchen, Ratten, Gerbils) etabliert worden. Für die Verwendung von Kleintieren sprechen mehrere Gründe:

- (1) Die zerebrale arterielle Gefäßversorgung größerer Säugetiere weist eine reiche, z.T. individuell unterschiedliche Anastomosierung auf. Die Induktion einer vollständigen, reproduzierbaren Ischämie ist deshalb ohne massive Manipulation des systemischen Kreislaufs problematisch.
- (2) Neben wesentlich geringeren Haltungskosten spielen eine hohe Reproduktionsrate, eine kürzere Aufzuchtzeit und Generationsfolge zur Etablierung von genetisch ähnlichem Tiermaterial oder Inzuchtstämmen eine wichtige Rolle.
- (3) Durch die Verwendung höherer Stichprobenzahlen lassen sich die in den Versuchen erzielten Ergebnisse statistisch besser absichern.

Untersuchungen mit Ratten werden u.a. am "4-Vessel-Occlusion Model" nach Pulsinelli (Pulsinelli 1979) (permanenter Verschuß der Aa. vertebrales und temporäre Okklusion der beiden Karotiden) und am "2-Vessel-Occlusion Model" (temporäre Okklusion der beiden Karotiden) mit induzierter Hypotonie durchgeführt.

In der vorliegenden Arbeit nun sollten am Modell der transienten globalen Ischämie beim Gerbil durch bilaterale Karotis-Okklusion zerebrale und systemische Veränderungen nach einem ischämischen Insult untersucht werden.

Die bilaterale Karotis-Okklusion, auch als "2-Vessel-Okklusion Model" oder "Forebrain-Ischemia" des Gerbils bezeichnet, ist ein sehr häufig verwendetes tierexperimentelles Modell und zeichnet sich durch folgende Merkmale besonders aus:

- (1) Der inkomplette Circulus Willisi als eine gefäßanatomische Besonderheit dieser Tierspezies ermöglicht es, mit Hilfe eines relativ geringen operativen Eingriffs eine globale Ischämie zu induzieren. Dabei bleibt die Versorgung des Hirnstamms

über die Vertebralarterien erhalten.

- (2) Herz-Kreislauffunktion und Spontanatmung bleiben während der Okklusion erhalten. Sogar Ischämiezeiten bis zu 60min werden von fast allen Tieren primär überlebt (Du Bois 1985). Das Modell eignet sich daher sowohl für die Untersuchung der frühen (-24h) wie späten postischämischen Reperfusionphase.
- (3) Die Schwere des ischämischen Insults korreliert eng mit der Schwere und dem Umfang des Hirnschadens in **selektiv vulnerablen Arealen**. Das Ausmaß der Schädigung ist, unter der Voraussetzung daß dabei bestimmte Kriterien berücksichtigt und festgelegt werden, konstant und reproduzierbar (Petito 1986).

1.3 Problematik

Das Modell wird von vielen Arbeitsgruppen nicht nur zum Studium pathophysiologischer Mechanismen, sondern auch zur Bewertung der Effektivität neuer therapeutischer Ansätze verwendet. Die vergleichende Betrachtung von experimentellen Befunden wies dabei auf folgende Problematiken hin:

- (1) Die Überlebensrate ist ein sehr häufig verwendeter Parameter. In der Literatur sind jedoch nach identischen Ischämiezeiten sehr unterschiedliche Mortalitätsraten beschrieben worden. So fand Du Bois (1985) 24 Stunden nach einer 15min Ischämie eine Überlebensrate von 100%, während bei Jarrott (1980) im gleichen Zeitraum nur 50% der Tiere überlebten.
- (2) Histologische Untersuchungen wurden zu einzelnen Zeitpunkten nur an überlebenden Tieren durchgeführt, obwohl nach Ischämiezeiten von mehr als 10min oft über 50% der Tiere verstarben.
- (3) Auswirkungen einer zerebralen Ischämie auf das Verhalten und auf funktionelle Parameter sind beim Gerbil (Bothe 1986; Araki 1986) und bei der Ratte (Volpe 1984; Araki 1986b) bislang nur wenig untersucht.

Die Effektivität einer Therapie nach einem Schlaganfall beim Menschen spiegelt sich nicht nur in der Verringerung der Mortalitätsrate wider, sondern auch in der Prevention von Sekundärschäden wie z.B. neurologischen Ausfällen.

Die beidseitige Unterbindung der A. carotis communis führt beim Gerbil zu einer vollständigen Ischämie des Großhirns. Ähnlich schwere Störungen der Hirndurchblutung werden beim Menschen durch schwere Herzrhythmusstörungen, Kreislaufinsuffizienz oder Herzstillstand hervorgerufen. In beiden Fällen erstreckt sich die Lokalisation der zerebralen Schädigung auf die Stammganglien, den zerebralen Cortex sowie vor allem auf den Hippocampus (Petito 1986). Dieses Hirnareal ist funktionell an der Gedächtnisbildung, der Steuerung von Empfindungen, Motivation

und des Spontanantriebs sowie anderen wesentlichen Verhaltensmerkmalen beteiligt (Seiferle 1975).

1.4 Ziel der Arbeit

Das Ziel der vorliegenden Untersuchung war, morphologische, biochemische und funktionelle Veränderungen in der postischämischen Phase zu erfassen, die als zuverlässige Parameter möglichst frühzeitig eine sichere Aussage über den Grad der zerebralen Schädigung nach einer Großhirn-Ischämie zulassen. Folgende Fragestellungen standen im Vordergrund:

- (1) Charakterisierung der Morbidität und Mortalität nach einer zerebralen Ischämie sowie
- (2) Erarbeitung prognostischer Parameter, die möglichst früh eine sichere Aussage bezüglich des Überlebens erlauben.
- (3) Einfluß der zerebralen Ischämie auf Verhaltens- und neurologische Funktionsparameter.
- (4) Histologische Auswertung selektiv geschädigter Hirnareale. Bedeutung systemischer und zentraler Veränderungen für die selektive Vulnerabilität.

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1 VERSUCHSTIERE

Der Gerbil oder die Mongolische Wüstenrennmaus (Ordnung: Rodentia; Familie: Muridae; Genus: Meriones; Spezies: unguiculatus) wurde am Institut für Chirurgische Forschung der Universität München als Versuchstier erstmals etabliert.

2.1.1 Spontane Krampfneigung

Mongolische Wüstenrennmäuse neigen zu spontanen, durch verschiedene Stimuli provozierbaren, epileptiformen Anfällen (Thiessen 1968). Die Häufigkeit der Neigung zu spontanen Anfällen schwankt bei Zuchtstämmen verschiedener Laboratorien zwischen 20% (Thiessen 1968, Kaplan 1972) und 80% (Goldblatt 1971).

Mehrere Autoren (Thiessen 1968; Kaplan 1972; Loskota 1972; Loskota 1974;) untersuchten die Modalitäten der zum Anfall führenden Umstände sowie den stereotypen Ablauf der Anfälle selbst.

Dabei ist bislang die Qualität eines spezifischen, zur Auslösung der Krampfkaktivität notwendigen Reizes ungeklärt (Thiessen 1968; Kaplan 1972). Allgemein scheint jede ungewöhnliche Manipulation des Tieres oder Veränderung der Umgebung (Goldblatt 1971) ein möglicher Trigger für ein Tier mit Anfallsdisposition zu sein. Neben der Bedeutung des zeitlichen Abstandes zwischen einzelnen Krämpfen (Thiessen 1968; Goldblatt 1971) und der Bedeutung des Alters der Tiere für die erste Manifestation von Anfällen (Kaplan 1972; Loskota 1974) scheint für die Krampfintensität auch die zirkadiane Rhythmik (Thiessen 1968; Eder 1982) eine bedeutende Rolle zu spielen. Die Tiere wurden ab einem Alter von 10 Wochen 4 mal im Abstand von 7 Tagen auf ihre Anfallsdisposition und -intensität getestet. Sie wurden dazu einzeln auf eine glatte Metallfläche gesetzt und für 3 min beobachtet. Tiere, die innerhalb dieses Zeitraumes keine Auffälligkeiten zeigten, wurden als "anfallsfrei" bewertet.

Die Anfälle wurden nach Angaben von Loskota (1974) klassifiziert:

Grad 0: Kein Anfall innerhalb von 5min nach Verbringen in fremde Umgebung.

Grad 1: Zucken der Ohren und Tasthaare bei erhaltener Lokomotion.

Grad 2: Sistieren der Lokomotion.

Grad 3: Starre mit Myoklonien.

Grad 4: Tonisch-klonischer Anfall.

Grad 5: Tonisch-klonischer Anfall mit Seiten- oder Rückenlage.

Grad 6: Anfall mit Todesfolge.

2.1.2 Zucht

Als Stammtiere der Zucht wurden je 20 männliche und weibliche Tiere der Firma Hoechst (Frankfurt, Main) verwendet. Als Zuchttiere dienten ausschließlich Gerbils, die einerseits entweder zu allen 4 Testzeitpunkten anfallsfrei waren oder andererseits mindestens eine Krampfaktivität Grad 4 (tonisch-klonische Anfälle) zeigten.

Die Nachkommen der ausgewählten Paarungen wurden ab einem Alter von 8 Wochen (Kaplan 1972) auf Anfallsfreiheit getestet, und der Zuchtstamm durch Geschwisterpaarungen oder bei Tod eines Elternteils, durch Eltern-Nachkommenpaarung auf ca. 40 Zuchtpaare erweitert und ergänzt.

2.1.2 Haltung

Die Zuchtpaare wurden in Macrolonkäfigen Typ 3 bei 22°C Raumtemperatur und 60% Luftfeuchtigkeit und einem künstlichtgesteuerten 12h Tag/ Nachtzyklus gehalten. Futter (Fa. ALMA, Kempten, Versuchstierdiät H1003 für Mäuse und Ratten) und Trinkwasser wurden ad libitum gefüttert. Die Jungtiere wurden nach 24 Tagen abgesetzt, nach Geschlecht getrennt und in Gruppen zu 6 Tieren gehalten.

2.1.3 Auswahlkriterien für Versuchsverwendung

Es wurden ausschließlich männliche Gerbils mit einem Mindestalter von 14 Wochen, einem Körpergewicht zwischen 60-90g und eindeutiger Zuordnung der Anfallsneigung verwendet.

2.2 VERSUCHSANORDNUNG

Für den Zeitraum der Präparation der Halsgefäße und der nachfolgenden zerebralen Ischämie wurden die Tiere anästhesiert. Die Spontanatmung blieb bei der verwendeten Inhalationsnarkose erhalten.

2.2.1 Chirurgisches Vorgehen

Zur Präparation der Halsschlagadern wurde das Hautareal zwischen Schlundbereich und Manubrium sterni geschoren und mit 60%-iger 2-Propanol-Lösung desinfiziert. Sodann wurde auf der ventralen Halsseite ein ca. 1.5cm langer medianer Hautschnitt bis zum kranialen Ende des Sternums gelegt. Nach Mobilisation des Fettgewebes und der paarigen Glandulae mandibulares wurden die beiden Halsschlagadern im Winkel, den die Musculi sternohyoidei und cleidomastoidei bilden, in ihrem Verlauf entlang

der Trachea dargestellt. Es wurde besonderen Wert auf eine schonende und vollständige Isolierung von umliegenden Strukturen, wie z.B. dem Truncus vagosympathicus und N. phrenicus, gelegt. Mit Hilfe eines Operationsmikroskops (Fa. Zeiss) bei ca. 6-facher Vergrößerung wurden die beiden Arterien mit einem Seidenfaden (Stärke 6-0, Fa. Ethicon) angeschlungen.

2.2.2 Ischämie

Zur Ischämieinduktion wurden die beiden Fadenenden über ein Widerlager gelegt und mit einem Gewicht von 15g beschwert. Dies führte zum simultanen, vollständigen Verschuß beider Gefäße. Die völlige Unterbrechung des arteriellen Blutflusses sowie die optische Leere beider Gefäßlumina direkt vor und hinter der Okklusion wurden mit Hilfe des Operationsmikroskops direkt kontrolliert (Kempski 1987). Die exponierten Gefäße und das Operationsgebiet wurden kontinuierlich mit 0.9% Kochsalzlösung superfundiert. Am Ende der Ischämiezeit wurden die Seidenfäden mittels Scherenschlag durchtrennt und die Reperfusion eingeleitet. Der Wundverschluß erfolgte durch Verkleben der Hautränder mit Histoacryl^R blau (Fa. Braun Melsungen, Melsungen). Während der ersten Versuchsreihen wurde die Körpertemperatur mit Hilfe einer rektal eingeführten Temperatursonde über die gesamte Präparationsdauer kontinuierlich überwacht.

Die Tiere wurden anschließend in Einzelkäfigen (Macrolon Typ 2 o. ä.) gehalten. Mit Hilfe von Heiztischen (38°C) konnte zur Stabilisierung der Körpertemperatur eine ausreichend hohe Umgebungstemperatur gewährleistet werden.

2.2.3 Narkose

Die Narkose wurde mit einem 4% Fluothane^R-Luftgemisch (Halothan, 2-Brom,2Chlor-1,1,1-Trifluorethan, ICI-Pharma) mit einer Flußrate von 2 l/min eingeleitet. Die Induktionszeit bis zum Sistieren der Schmerzreflexe an Extremitäten und Schwanz betrug ca. 30-40sec, die Tiere wurden während dieses Zeitraumes an Nackenfell und Schwanzbasis fixiert. Die anschließende Präparation der Halsschlagadern wurde bei 2-2.5 Volumenprozent durchgeführt. Während der Ischämie betrug der Halothananteil 0.5-0.75%.

Um ein möglichst vollständiges Einatmen des Halothan-Luftgemisches ohne Intubation oder Tracheotomie der Tiere zu gewährleisten, wurde eine spezielle Narkosekammer konstruiert. Als Kopfmaske wurde ein Polypropylen-Zentrifugenröhrchen (50ml) verwendet, das an seinem konischen Ende mittels eines Gummischlauches direkt mit einem Halothanverdampfer "Vapor 19" (Drägerwerke AG, Lübeck) in Verbindung stand. Zur Entfernung von überschüssigem und abgeatmetem Narkosegas-Luftgemisch wurde die Atemmaske im Lumen einer Kunststoffinfusionsflasche, deren Boden herausgetrennt

war, fixiert. Aus der Vorderwand der Flasche gegenüber der Maskenöffnung wurde eine zungenförmige Lasche herausgetrennt, zum Flaschenboden hin abgebogen und zur zusätzlichen Befestigung am Zentrifugenröhrchen fixiert. Die Narkosevorrichtung stand über einen weiteren Gummischlauch am Kopf der Infusionsflasche mit einer zentralen Absauganlage in Verbindung. Die beschriebene Apparatur war an einer stereotaktischen Halterung befestigt, in die eine beheizbare Operationsplatte für Labor-tiere integriert war.

2.3 VERSUCHSGRUPPEN

Es wurde bei allen Untersuchungen zwischen zwei Versuchsgruppen unterschieden:

1) Käfighaltung ("Käfigtiere")

Diese Tiere wurden während der gesamten Versuchsdauer in Einzelkäfigen (Macrolon Typ 2) gehalten.

2) Haltung in Laufradkäfigen ("Laufradtier")

Jedes Tier dieser Gruppe hatte im Versuch 24h/Tag freien Zugang zu einer am Käfig befestigten Lauftrommel (Durchmesser 34cm) zur Messung der Spontanaktivität.

2.4 VERSUCHSANORDNUNG

Die Untersuchungen wurden entsprechend den 3 nachfolgend beschriebenen Versuchsprotokollen durchgeführt:

2.4.1 Versuchsprotokoll: "Käfigtiere" (Abb. 1)

Die Tiere wurden der temporären, bilateralen Karotisokklusion unterzogen und nach einer 30 minütigen kontrollierten Aufwachzeit bis zum jeweiligen Versuchsende, d.h. nach 2 oder 4 Wochen, in Einzelkäfigen gehalten. Überlebende Tiere wurden perfusionsfixiert, die Hirne entnommen und histologisch untersucht (siehe 2.8). Um auch Hirnpräparate von Tieren, die innerhalb des Versuchszeitraumes starben, untersuchen zu können, wurden Tiere mit infauster Prognose kurz vor Eintritt des Todes perfusionsfixiert. Für die Prognose war außer einem schlechten Allgemeinbefinden (gesträubtes Haarkleid, Lethargie, aufgekrümmter Rücken) vor allem der drastische Körpergewichtsverlust ausschlaggebend. Wie weiter unten erläutert, war ein Abfall des Körpergewichts

BILATERALE CAROTIS - OKKLUSION BEIM GERBIL Versuchsprotokoll

Narkose:

Luft

Halothan 4%

Histologie

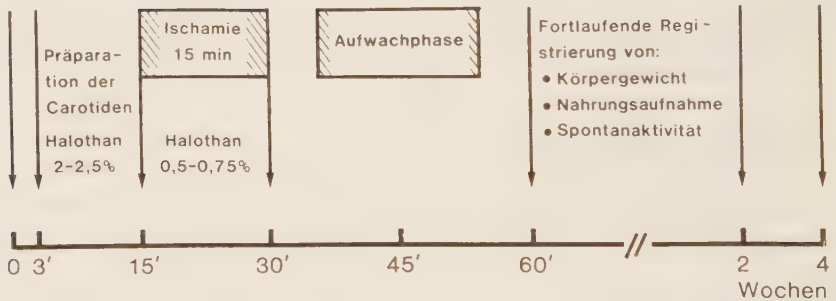


Abbildung 1:

Schematische Darstellung des Versuchsverlaufs bei Tieren in konventioneller Käfighaltung. Die Präparation des Versuchstieres bis zur Induktion der Ischämie dauerte ca. 15 min. Während der Aufwachphase wurden die Tiere beobachtet und ihre Körpertemperatur mit Hilfe eines Heiztisches aufrecht erhalten. In der postischämischen Versuchsphase wurden verschiedene Parameter täglich registriert. Zur histologischen Auswertung der Hirne wurden die überlebenden Tiere am Versuchsende perfusionsfixiert.

von mehr als 35 % des präoperativen Kontrollgewichtes nach zerebraler Ischämie immer tödlich.

Da sich im Verlauf der Untersuchungen zusätzliche Fragestellungen ergaben, wurden weitere Messparameter in das Versuchsprotokoll integriert.

Tabelle 1:

Parameter	15min Ischämie	20min Ischämie	ohne Ischämie
1. Überleben	n = 55	n = 24	n = 12
2. Körpergewicht	n = 35	n = 24	
3. Nageaktivität	n = 55		
4. Laborparameter			
4.1 Hämatokrit	n = 14		
4.2 Plasmaosmolarität	n = 14		
4.3 Blutglukose	n = 18		
5. Histologie			
4 Tage n. Ischämie	n = 9		
14 Tage n. Ischämie	n = 9	n = 5	
10 Wochen n. Ischämie	n = 10		

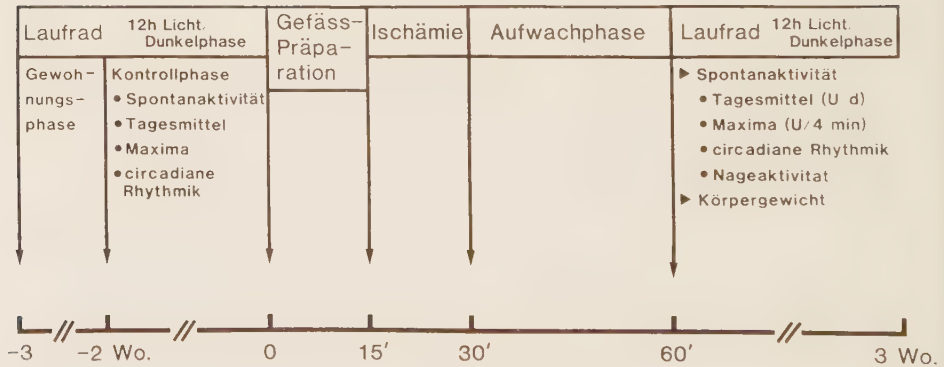
2.4.2 Versuchsprotokoll: "Laufradtiere" (Abb. 2)

Zur Gewöhnung wurden die Tiere vor Einleitung der Ischämie in Laufradkäfige gebracht. An eine 7-tägige Eingewöhnungsphase schloss sich ein 2-wöchiger Kontrollzeitraum an, in dem die präischämische Aktivität im Laufrad bestimmt wurde. Es folgte die beidseitige Karotisokklusion für 15 oder 20min Dauer und eine 30min Aufwachphase unter kontrollierten Bedingungen. Dann wurden die Tiere in ihre Laufkäfige zurückgesetzt und die Aktivitätsmessungen fortgesetzt. Um die Spontanaktivität der Tiere vor allem in der frühen postoperativen Phase möglichst wenig zu beeinflussen, wurden keine Parameter untersucht, für die eine häufigere Entnahme der Tiere aus den Laufkäfigen oder eine vorübergehende Sedation zur Prob-

ennahme notwendig waren. Bestimmungen des Hämatokrits oder der Blutglukose wurden deshalb bei diesen Versuchsgruppen nicht durchgeführt. Die Tiere wurden nach 2 oder 3 Wochen am Versuchsende perfusionsfixiert und die Hirne zur histologischen Aufarbeitung entnommen und in Paraffin eingebettet.

BILATERALE CAROTIS – OKKLUSION BEIM GERBIL

Versuchsprotokoll: Laufrad

Abbildung 2:

Schematische Darstellung des Versuchsverlaufs von Tieren in Laufradkäfigen. 3 Wochen vor der Ischämie-Induktion wurden die Tiere in Laufkäfige gebracht. Nach einer 1-wöchigen Gewöhnungsphase wurde mit den Messungen der Kontrollphase begonnen. Die Präparation und Aufwachphase wurde entsprechend dem in Abb.1 dargestellten Protokoll durchgeführt. Die Tiere wurden unmittelbar danach in ihre Laufkäfige zurückgebracht und die täglichen Messungen der postischämischen Phase begonnen. Die überlebenden Tiere wurden zu verschiedenen Zeitpunkten für die histologische Auswertung perfusionsfixiert.

Tabelle 2:

Parameter	15min Ischämie	20min Ischämie	ohne Ischämie
1. Überleben	n = 14	n = 9	n = 6
2. Körpergewicht	n = 6	n = 9	
3. Nageaktivität	n = 14		
4. Aktivitätsmessung			
Laufрад	n = 24	n = 9	n = 6
5. Histologie			
4 Tage n. Ischämie	n = 9		
14 Tage n. Ischämie		n = 9	
10 Wochen n. Ischämie	n = 8		n = 2

2.4.3 Versuchsprotokoll: Alternierende Käfighaltung (Abb.3)

Ziel der Untersuchung war es, die bei Versuchsgruppe 2 (Laufрад) gemachten Befunde im Detail zu analysieren. Die Laufzeit der Tiere wurde auch wegen der geringen Anzahl von Meßplätzen (Käfige, Meßkanäle) auf 14 Tage begrenzt, da sich gezeigt hatte, daß nach einer 7-tägigen Gewöhnungsphase eine einwöchige Kontrollphase konstante Meßwerte ergab.

Neben einer Gruppe von Tieren mit konventioneller Käfighaltung wurden 2 weitere Versuchsgruppen gebildet. Eine Gruppe hatte nur vor, die andere nur nach der Ischämie Zugang zu Laufrädern.

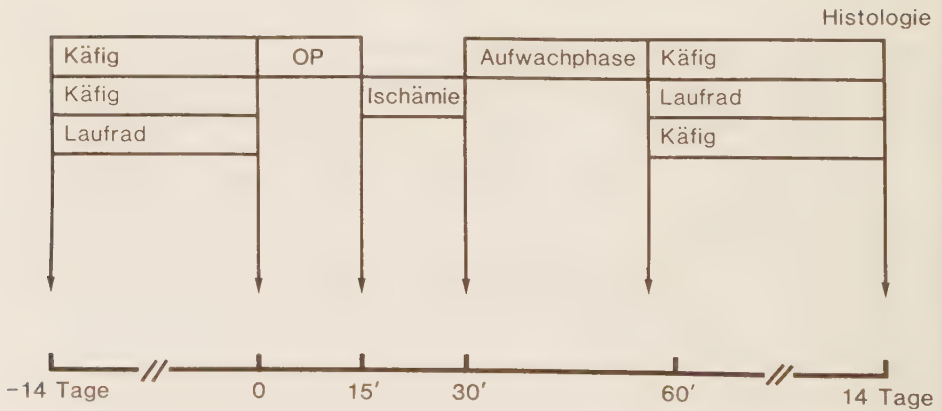
Das Versuchsprotokoll entsprach dabei dem in Abb. 1 und 2 dargestellten Ablauf in der postischämischen Phase.

Tabelle 3: Parameter und Stichprobenzahl bei Gerbils in konventioneller Käfighaltung nach (linke Spalte) und vor der Ischämie (rechte Spalte)

Parameter	Laufaktivität	Laufaktivität
	vor Ischämie (15min)	nach Ischämie (15min)
1. Überleben	n = 11	n = 12
2. Körpergewicht	n = 11	n = 12
3. Nageaktivität	n = 11	n = 12
4. Blutglucose	n = 5	n = 12
5. Aktivitätsmessung		
vor Ischämie	n = 11	
nach Ischämie		n = 12
6. Histologie		
14 Tage nach Ischämie	n = 11	n = 10

BILATERALE CAROTIS – OKKLUSION BEIM GERBIL

Versuchsprotokoll: Käfig/Laufrad

Abbildung 3:

Schematische Darstellung des Versuchsverlaufs bei Tieren mit alternierenden Haltungsformen. Das Vorgehen bei Tieren mit prä- und postischämischer Käfighaltung entsprach dem in Abb. 1 dargestellten Schema. Tiere mit präischämischer Käfig- und postischämischer Laufkäfighaltung wurden entsprechend dem in Abb. 1 bzw. Abb. 2 wiedergegebenen Versuchsprotokoll vor bzw. nach der Ischämie behandelt. Entsprechend fanden die beiden Versuchsprotokolle bei Tieren mit präischämischer Laufkäfighaltung in umgekehrter Reihenfolge Anwendung.

2.5 EINFLUß VON FUTTER- UND WASSERENTZUG

Nach der Ischämie zeigten alle Tiere einen erhöhten Verlust an Körpermasse. Der Gewichtsverlust war vor allem bei den Tieren ausgeprägt, die nach der Ischämie starben. Die folgenden Versuche sollten klären, inwieweit die postischämische Gewichtsabnahme durch Aphagie und Adipsie oder durch andere Faktoren bedingt war. Es war deshalb zunächst notwendig, die Gewichtsentwicklung bei nicht-ischämischen Tieren unter Nahrungs- und Flüssigkeitsentzug zu untersuchen.

2.5.1 Nicht-ischämische Tiere

Bei 4 Gruppen (à 4 Tieren) wurden Körpergewicht, Hämatokrit und Plasmaosmolarität unter folgenden Versuchsbedingungen 4 Tage lang untersucht:

- 1) Futter und Wasser ad lib.
- 2) Kein Futter, Wasser ad lib.
- 3) Kein Wasser, Futter ad lib.
- 4) Kein Futter, kein Wasser

2.5.2 Tiere mit Ischämie

Der postischämische Gewichtsverlust verdeutlicht die Bedeutung dieses Parameters für das Überleben der Tiere. Es stellte sich die Frage, inwieweit bereits eine präischämische Gewichtsreduktion Einfluß hat auf das Erreichen einer für das Überleben kritischen Gewichtsgrenze und somit auf die Mortalität nach einer zerebralen Ischämie. Zur Klärung wurde folgende Versuchsanordnung gewählt:

- 1) Gruppe "F1": Futter- und Trinkwasserentzug 24h vor Induktion der Ischämie (15min)
- 2) Gruppe "F4": Futter- und Trinkwasserentzug 4 Tage vor Induktion der Ischämie (15min)

(Bei beiden Gruppen wurde die prä- und die postischämische Gewichtsentwicklung und Überlebensrate bestimmt.)

2.6 ANALYTISCHE METHODEN

2.6.1 Körpergewicht

Das Körpergewicht der Tiere (in Gramm) wurde mit einer Laborwaage (Fa. Mettler, Giessen) bestimmt. Die Messungen wurden zu Versuchsbeginn bzw. vor Induktion der Ischämie und, soweit die Versuchsanordnung es zuließ, auch über mehrere Tage bzw. während der gesamten postischämischen Phase täglich durchgeführt. Änderungen wurden als prozentuale Differenz gegenüber dem präischämischen Kontrollgewicht registriert.

2.6.2 Futter- und Wasseraufnahme

Die Fütterungseinrichtungen der Laufkäfige ließen keine genaue Bestimmung des Futter- und Wasserverbrauchs zu, so daß die täglichen Messungen nur bei Tieren, die in normalen Macrolon-Käfigen gehalten wurden, durchgeführt werden konnten. Gleichzeitig wurden Kontrollmessungen mit Leerkäfigen vorgenommen, um den Gewichtsverlust durch Verdunstung zu bestimmen. Der tatsächliche Futter- und Wasserverbrauch wurde nach folgender Formel bestimmt:

(Gemessene tägliche Gewichts Differenz der Futter/Wassermenge) - (mittlerer täglicher Gewichtsverlust von Futter/Wasser in den Leerkäfigen)

2.6.3 Nageaktivität

Zernagen von Materialien wie Pappe, Holz und Stroh für den Nestbau gilt beim Gerbil als speziesspezifisches Verhalten (Glickman 1967). Die Tiere erhielten vor der Ischämie 2 Wochen lang täglich 7x7cm große Wellpappestückchen, die innerhalb weniger Stunden vollständig zernagt wurden. In der postischämischen Phase wurde der Zeitpunkt der Wiedereinsetzenden Nageaktivität registriert.

2.6.4 Laborparameter

Sämtliche Messungen wurden als Doppelbestimmungen durchgeführt.

2.6.4.1 Technik der Blutentnahme

Sie erfolgte an anästhesierten Tieren bzw. während der Präparation kurz vor Einleitung der zerebralen Ischämie durch Punktion des retroorbitalen Venenplexus mit einer Glaskapillare.

2.6.4.2 Hämatokrit

Die Bestimmung des Hämatokrit erfolgte vor und am 4. Tag nach Ischämie. Verwendet wurden heparinisierte Hämatokritkapillaren sowie eine Hämatokritzentrifuge (Fa.Hettich, Tuttingen). Die Auswertung wurde mit Hilfe des "Micro-Haematocrit Raeder" (Fa.Hawksley, London, England) durchgeführt.

2.6.4.3 Blutglukose

Zur Messung der Blutglukosekonzentration wurden Reflocheck^R-Teststreifen und der Reflexionsphotometer Reflocheck^R (Fa. Boehringer Mannheim) verwendet. Für eine Einzelmessung wurde jeweils ein Tropfen venöses Blut auf den Teststreifen eingebracht. Die Messungen erfolgten unmittelbar vor Präparationsbeginn, 60 sec nach Ende

der Ischämie und am 4. Tag der Reperfusion.

2.6.4.4 Osmolarität

Nichtheparinisierte Vollblut-Proben (ca. 0.6-0.8ml) wurden in 1.5ml Reaktionsgefäßen (Fa. Eppendorf, Hamburg; Nr.3810) bei 3000U/min 5min lang zentrifugiert (Zentrifuge Nr.5412, Fa. Eppendorf, Hamburg). Für die Osmolaritätsmessung nach dem Prinzip der Gefrierpunktserniedrigung mit dem Osmomat 030 (Fa. Gonotec, Berlin) wurden 2 x 0.05 ml Serum aus dem Überstand der Reaktionsgefäße abpipettiert.

2.6.4.5 Blutdruck (Blutige Messung)

In Halothannarkose wurde mit Hilfe des Operationsmikroskops die Schwanzarterie an der Ventralseite der Schwanzbasis dargestellt und ein Kunststoffkatheter PE 10 (Fa. Portex, England) verbunden mit einer 27G-Kanüle (0.42mm, Fa. Braun Melsungen, Melsungen) in das Gefäß eingeführt und mit Seidenfäden der Stärke 7-0 (Fa. Ethicon, Hamburg) fixiert. Der Katheter war zur Druckmessung direkt mit einem Druckwandler (Stadham P 23ID, Gould, USA) verbunden. Über eine Druckmeßbrücke (Fa. Siemens-Elema, München) wurde der Blutdruck während des gesamten Versuchszeitraum mit Hilfe eines Schreibers (Servogor 310, BBC, Goerz, Österreich) aufgezeichnet.

Anschließend erfolgte die Präparation und Anschlingung der beiden Karotiden, die Induktion der Ischämie sowie eine 2-3h Beobachtungszeit in der Reperfusionsphase.

Die kontinuierliche Blutdruckmessung beim Gerbil stellt aufgrund der Präparation und der invasiven Meßtechnik eine erhebliche Belastung dar und eignet sich daher nur für Fragestellungen, bei denen das Tier am Versuchsende in Narkose getötet wird. Die Bestimmung des Blutdrucks vor und während der Ischämie und in den ersten Stunden der Reperfusionsphase wurde deshalb exemplarisch an 6 Tieren durchgeführt.

2.7 SPONTANAKTIVITÄT

Für die kontinuierliche Aktivitätsmessung über 24h/Tag wurden Laufradkäfige, die Prof. Aschoff, Max-Planck-Institut für Verhaltensphysiologie, Erling bei Andechs, zur Verfügung stellte, verwendet (Abb. 4). Diese Versuchskäfige bestehen aus zwei Einheiten:

1. Käfig: 27x15x13cm Drahtgitterkäfig mit Lochblecheinlage im Ruhebereich.
2. Lauftrommel: Durchmesser 34cm. (1 Trommelumdrehung: 110cm)

Die beiden Einheiten sind an einer gemeinsamen Trennwand befestigt und durch eine manuell verschließbare Öffnung verbunden. Die Achse betätigt über eine exzentrisch gelagerte Rolle einen Kippschalter, der bei jeder Umdrehung einmal an- und ausge-

LAUFKÄFIG

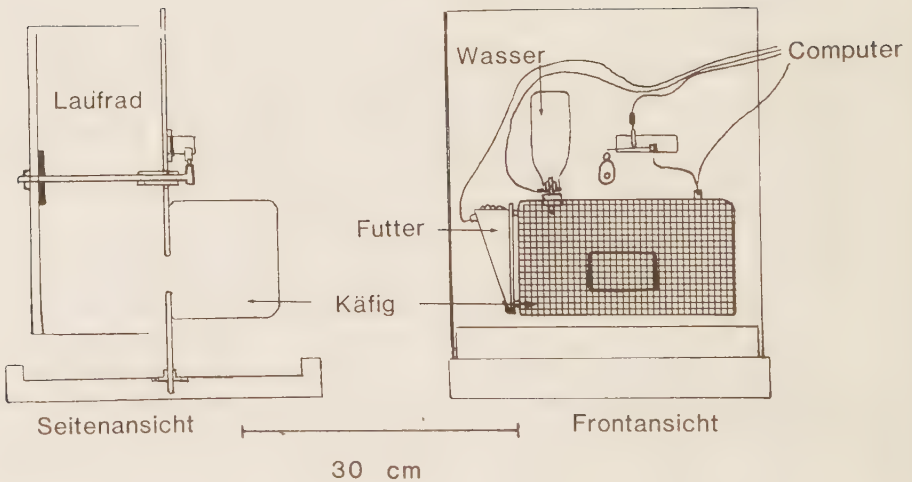


Abbildung 4:

Seiten- und Frontansicht eines Laufradkäfigs (aus Frerichs, in Vorbereitung). Die Lauftrommel hat einen Durchmesser von 34cm, die Abmessungen des Käfigs aus Drahtgitter und Lochblech betragen 27x15x13cm. Die Trommel betätigt bei jeder Umdrehung durch eine exzentrisch gelagerte Achse einen Kippschalter. Die Signale werden über einen zwischengeschalteten Transformator in Rechteckimpulse umgewandelt und an einen angeschlossenen Computer zur Digitalisierung der Analogdaten weitergeleitet. Freß- und Trinkaktivität können in entsprechender Weise gemessen werden.

schaltet wird. Die Signale werden über einen Analog-Digitalwandler als digitale Werte an einen Computer (Kontron PSI 80D, Fa. Kontron, Eching b. München) weitergeleitet und wurden mit Hilfe eines Programms (Datalog) registriert und ausgewertet.

Die Datenerfassung erfolgte in 4min-Intervallen à 360 Epochen/24h. Somit waren folgende Einzelmessungen möglich:

- Maximal erreichte Laufleistung in einem Einzelintervall
- Minimale Laufleistung in einem Einzelintervall
- Mittlere Laufleistung/Einzelintervall während 24h
- Verteilung der Einzelintervalle über 24h (=Zirkadiane Rhythmik)

2.8 HISTOLOGIE

2.8.1 Fixierung des Hirngewebes

Vor der histologischen Aufbereitung wurden die Tiere mit 2-prozentiger, phosphatgepufferter Paraformaldehydlösung perfusionsfixiert.

2.8.1.1 Perfusionsfixation

Die Tiere wurden in tiefer Narkose sternotomiert und thorakotomiert und das stumpfe Kanülenende nach linksseitiger Ventrikulotomie mittels Klemme im Ventrikel fixiert. Über Infusionsgeräte und -leitungen konnten die Lösungen durch einen 3-Wegehahn wahlweise zugeleitet werden. Die mit Lösungen gefüllten Flaschen wurden 160cm über dem Tier befestigt, so daß ein Perfusionsdruck von 120mm Hg erzielt wurde (Chiang 1968).

Mit Beginn der Infusion der heparinisierten Kochsalzlösung wurde der rechte Vorhof eröffnet und bis zur Wasserklarheit der Spülflüssigkeit (ca. 30 sec) perfundiert. Anschließend wurde das Tier mit ca. 15ml Paraformaldehyd fixiert, das Hirn entnommen und vor der weiteren Aufbereitung bei 4°C über 24h in der Fixierlösung aufbewahrt.

Verwendet wurden:

- 2 Kunststoff-Infusionsflaschen
- 2 "Infusionsgeräte Standard", (Fa. Armour Pharma, Eschwege)
- Perfusor^R-Infusionsleitungen (1,5x2.1mm), (Fa. Braun Melsungen AG)
- Discifix^R-3 Dreiweghahn, (Fa. Braun Melsungen AG)
- 20G-Einmalkanüle, (Fa. Braun Melsungen AG), stumpf
- Heparinisierte 0.9% NaCl-Spüllösung (50 IU/ml), (Matsumoto et al., 1982)
- Phosphatgepufferte Paraformaldehydlösung 2% (Raumtemperatur, 22°C)

2.8.1.2 Fixationslösung

Die Lösung wurde nach folgender Anleitung hergestellt:

Paraformaldehyd 4% in Aqua dest. (500ml),

Erhitzen auf 53°C,

Einstellen auf pH 7.4 durch 1n NaOH,

Zugabe von $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$, 43,6g/1000ml Aqua dest., ("Sörensen A"), 360ml

Zugabe von $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$, 27,4g/1000ml Aqua dest., ("Sörensen B"), 140ml

Auskühlen und Filtrieren

2.8.1.3 Anfertigung der histologischen Präparate

Die Hirne wurden stufenweise mit steigenden Alkoholkonzentrationen entwässert, zur Reinigung von Alkoholresten mit Methylsalicylat (reinst)(Fa. Merck, Darmstadt) inkubiert und mit Xylol (Fa. Merck, Darmstadt) gründlich gespült. Für das Einbetten der fixierten Hirne wurde Paraplast+^R (Fa. Monoject Scientific Inc., Athy, Ireland) verwendet.

Serienschnitte der Stärke 5µm, 0,5mm bis 3,0mm kaudal des Bregmas (Loskota 1974a), wurden mit Hilfe eines Schlittenmikrotoms (Modell Hn40, Fa. Jung) angefertigt und nach Nissl gefärbt.

2.8.1.4 Histologische Auswertung

Die hippocampalen Hirnstrukturen des Gerbils wurden nach dem "Stereotaxic Atlas of the Mongolian Gerbil Brain" (Loskota 1974a) bestimmt. Demnach erstrecken sich die dorsalen Anteile des Hippocampus in einem Bereich von 0,8-1,9mm, die dorsoventralen 1,9-3,1mm kaudal des Bregmas.

Die Veränderungen im dorsalen Bereich des Hippocampus nach einer transienten zerebralen Ischämie waren im gesamten Bereich seiner Ausdehnung gleichartig (Kirino 1984). Für die histologische Auswertung wurde deshalb ein Bereich gewählt, in dem die einzelnen Sektoren CA1-4 (= Cornu ammonis 1-4) deutlich voneinander abgrenzbar waren. Die charakteristische Form der hippocampalen Sektoren ermöglichte außerdem die Identifizierung entsprechender Präparate aus den Serienschnitten einzelner Hirne.

Es wurden ausschließlich Schnitte ausgewertet, die ca. 1,6-1,7mm kaudal des Bregmas lagen. Die genaue Lokalisation der untersuchten Abschnitte aus den Sektoren CA1-CA4 sind Abb. 5 zu entnehmen.

Durch Orientierung an charakteristischen Strukturen wie Gyrus dentatus konnten identische Regionen in den histologischen Präparaten für die Auswertung definiert werden (siehe Abb. 5).

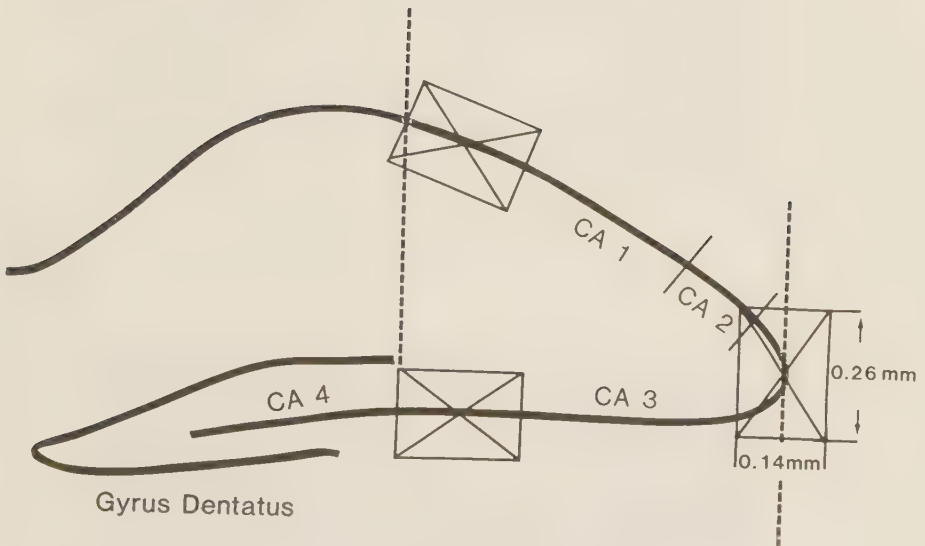


Abbildung 5:

Schematische Darstellung der dorsalen Hippocampusformation 1.6-1.7mm caudal des Bregmas beim Gerbil. Die Referenzproben zur Bestimmung der Neuronenzahl in den einzelnen Hippocampussektoren wurden nach folgendem Vorgehen bestimmt:

- CA3: linker Gitterrand am caudalen Ende des CA1-seitigen Dentatusschenkel, CA3-Sektor Gittermitte, horizontalverlaufend.
- CA1: gegenüber CA3-Abschnitt auf CA1-Sektor, Neuronenband in der Mitte und parallel zu den Gitterlinien.
- CA2/3: Laterale Konvexität des Neuronenbandes, innerer Scheitelpunkt in der Gittermitte.

Die lichtmikroskopische Untersuchung erfolgte mit Hilfe eines Standard-Durchlichtmikroskopes (Fa. Zeiss, Oberkochen) mit 10-facher Okular- und 16-facher Objektivvergrößerung. Über einen Adapter war das Mikroskop mit einer Videokamera (CH-1400CE, Sony, Japan) verbunden. Mit einem "8bit-Analog-Digitalwandler" (Digiview, NewTek, New York, USA) wurden mikroskopische Bildausschnitte über einen angeschlossenen Computer mit einer Auflösung von 320x200 Bildpunkten sichtbar gemacht und für die Auswertung gespeichert (Computer: Amiga 1000, Bildschirm 1081, beide Commodore, Braunschweig). Das lichtmikroskopische Bild wird dabei in 256 Grautöne aufgeteilt, zur Darstellung des Bildes auf dem Monitor wird die Auflösung auf 16 Graustufen reduziert. (Abb. 6)

Der digitalisierte Bildausschnitt entspricht mit einer Kantenlänge von $360 \times 210 \mu\text{m}$ einer Fläche von $7.6 \times 10^4 \mu\text{m}^2$.

Die Bestimmung der Nervenzelldichte und weiterer Gewebsbestandteile erfolgte mit Hilfe eines Graphik-Programms (DeLuxe Paint, Electronic Arts 1985, San Mateo, Ca, USA).

Ein farbiges Gitternetz ($260 \times 140 \mu\text{m}$; Fläche: $3.6 \times 10^4 \mu\text{m}^2$) wurde so auf die Bildausschnitte projiziert, daß bei den Sektoren CA1 und CA3 das Neuronenband zentral, beim Sektor Ca2/3 der Mittelpunkt des Gitters am inneren Scheitel des Nervenzellbogens zu liegen kam. Die Koordinaten der Position wurden registriert (Abb. 7).

Folgende Einteilung für die Bestimmung von Gewebsbestandteilen wurde getroffen: (Abb. 8)

- NERVENZELLEN: eine weitere morphologische Differenzierung unterblieb.
- GLIA: lichtmikroskopisch nicht als Neuronen identifizierbare Zellen im Parenchym
- KAPILLAREN: gegenüber Vakuolen waren diese durch eine scharfe endotheliale Abgrenzung vom Neuropil und durch sichtbare wandständige oder abgelöste, intraluminale Endothelzellkerne charakterisiert.
- NEUROPIL: ein sehr dichtmaschig verflochtenes Netz neuronaler Fortsätze: lichtmikroskopisch strukturarm

Gezählt wurden ausschließlich die unter den Kreuzungspunkten (insgesamt 104) liegenden Strukturen, wobei die randständigen Gitterpunkte nicht berücksichtigt wurden.

Zur Quantifizierung des so ermittelten Nervenzellanteils wurden deshalb an histologischen Präparaten nicht-ischämischer, scheinoperierter Tiere absolute Zellzählungen innerhalb der vom Gitter umschlossenen Fläche durchgeführt.

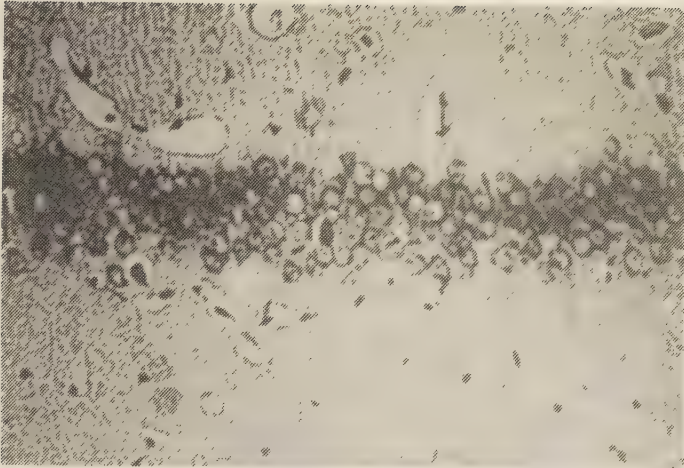


Abbildung 6:

Digitalisiertes Bild eines lichtmikroskopischen Ausschnitts vom CA1-Sektor eines scheineroperierten Gerbils in 16-facher Objektivergrößerung. Die Abmessungen betragen $360 \times 210 \mu\text{m}$.

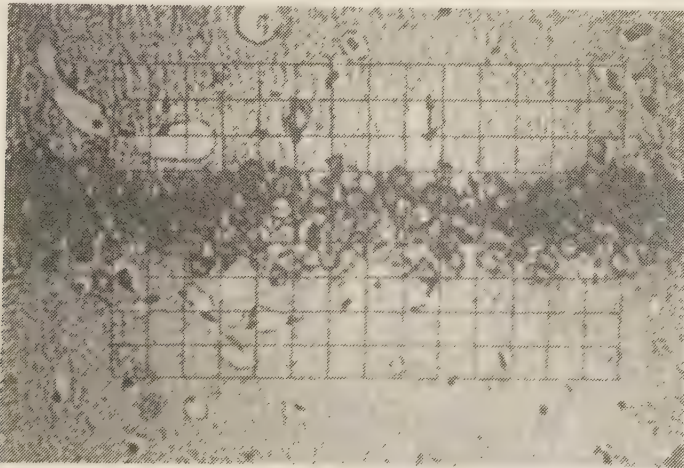


Abbildung 7:

Zur Bestimmung der relativen Nervenzellzahl wurde ein farbiges Gitternetz ($260 \times 140 \mu\text{m}$) mit Hilfe eines Graphikprogramms auf den digitalisierten Bildausschnitt projiziert. Bestimmt wurden anschließend nur Gewebeanteile, die unter den 104 Kreuzungspunkten des Gitters lagen. Die äußersten Gitterpunkte wurden nicht bewertet. (siehe auch Abb. 8)



Abbildung 8:

Schematische Darstellung der bewerteten Gewebsbestandteile:

- kleine, dunkelgefärbte Kernstrukturen; "Glia"
- Große, unterschiedlich geformte und gefärbte Kernstrukturen: Neuronen
- Kapillaren
- lichtmikroskopisch strukturlose Areale: Neuropil

Gewertet wurden nicht Strukturen in den Gitterfeldern, sondern ausschließlich auf den Kreuzungspunkten.

2.9 KORROSIONSPRÄPARATE DES ARTERIELLEN GEFÄßSTAMMES DES KOPFES

Zur Darstellung der zerebralen Gefäßfüllung vor beziehungsweise während der bilateralen Karotis-Okklusion wurden Ausgußpräparate des vom Truncus brachiocephalicus versorgten arteriellen Gefäßbaumes erstellt.

Dazu wurden Tiere entweder vor oder nach beidseitigem Verschluß der Aa. carotis communes mit heparinierter physiologischer Kochsalzlösung perfundiert. Die Injektion einer niederviskösen Kunststoffmischung auf Polyesterbasis (TARDOPLAST SL, Fa. Schumm, Miesbach) erfolgte unmittelbar nach Zugabe eines Spezialhärters (2%) mit 2ml Rekordspritzen und einer abgeschliffenen 0.9mm starken Injektionskanüle unter manuellem Druck in den arteriellen Gefäßbaum. Durch die Kapillargängigkeit des polymeren Kunststoffes ließen sich Übertritte in den venösen Gefäßschenkel nicht vermeiden.

Das Präparat wurde zur Härtung des Kunststoffes für 6h bei 60°C im Wasserbad inkubiert und anschließend mit 40% Kalilauge (KOH) bei gleicher Temperatur mazeriert (Amselgruber 1987).

2.10 Statistische Methoden

Die statistische Auswertung der Versuchsdaten wurde mit Hilfe eines kommerziell vertriebenen Statistikprogramms (TEST, Fa. IDV, Gauting b. München) an einem IBM-AT-kompatiblen Personalcomputer (PCST, München) erstellt.

Änderungen innerhalb einzelner Versuchsgruppen wurden durch den zweiseitigen Wilcoxon- (Pratt-)Test nachgewiesen.

Zur Analyse der statistischen Signifikanz zweier Datenreihen mit Nominaldaten (Überlebenszeit, Überlebensrate) wurde die 2 x 2-Felder-Tabelle (Fisher's Exact Test) angewandt.

Bei Mehrfachgruppenvergleichen für unverbundene Stichproben wurde die Kruskal-Wallis-Analyse, für zwei unverbundene Datenreihen der Wilcoxon-Mann-Whitney-U-Test verwendet.

Die Nullhypothese wurde bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von weniger als 5% ($p < 0.05$) verworfen, die geprüften Daten als signifikant unterschiedlich betrachtet. Irrtumswahrscheinlichkeiten $< 1\%$ ($p < 0.01$ bzw. $p < 0.001$) wurden zusätzlich vermerkt. Sämtliche Berechnungen im Text und in Abbildungen werden als Standardfehler des Mittelwerts ($\bar{x} \pm s_x$) wiedergegeben.

Die Graphiken wurden an einem IBM-AT-kompatiblen Personalcomputer (PCST, Mün-

chen) unter Verwendung eines Graphik-Programmes (SIGMA-PLOTTM, Jandel Scientific, Sausalito, CA, USA) sowie einem angeschlossenen Plotter (7475A Plotter, Hewlett-Packard Company) erstellt. Die Berechnungen der Mittelwerte, Standardfehler sowie die Regressionsanalysen wurden ebenfalls mit dieser Software durchgeführt. Die Signifikanz der berechneten Korrelationskoeffizienten wurde mit Hilfe von Tabellen (Sachs, 1984) bewertet.

3. ERGEBNISSE

Für die vorliegende Arbeit wurden insgesamt 209 Gerbils verwendet. Dabei dienten 18 Tiere als nicht-ischämische Kontrolltiere. Mit 102 Tieren in konventioneller Käfighaltung und 64 Tieren in teilweiser oder ganzzzeitiger Laufradkäfighaltung wurden ZNS- und systemische Veränderungen nach einer zerebralen Ischämie von 15min (121 Tiere), 20min (33 Tiere) und 30min Dauer (12 Tiere) untersucht. Voruntersuchungen hatten ergeben, daß ca. 40% der Tiere eine spontane Krampfneigung zeigten. Es wurden daher zunächst als Voraussetzungen

- 1) das Auftreten der spontanen Krampfanfälle
- 2) die intrakranielle Gefäßarchitektur vor und während eines beidseitigen Karotisverschlusses anhand von Ausgußpräparaten untersucht.

3.1 Versuchstiere

3.1.1 Spontane Anfallsdisposition

In der Stammpopulation der Zucht zeigten unabhängig vom Geschlecht ca. 40% der Tiere epileptiforme Anfälle unterschiedlicher Intensität. Bei ca. 60% dieser Tiere ließen sich die Krampfaktivitäten dem Grad 2-3, bei ca. 40% den Graden 4 und 5 zuordnen. 18 Monate nach Beginn der Zucht war bei ca. 80% der Gesamtpopulation eine Krampfanfälligkeit nachweisbar, die fast ausschließlich Grad 4 und 5 entsprach. Spontane Anfälle der Stärke 1 und 2 wurden vereinzelt bereits bei 5 Wochen alten Tieren beobachtet. In keinem Fall wurde ein Anfall mit Todesfolge (Grad 6) registriert.

3.1.2 Gefäßarchitektur

Eine vergleichende Darstellung des perfundierten, arteriellen Gefäßstammes vor bzw. während der beidseitigen Karotisligatur im Kopf-Halsbereich zeigt Abb. 9.

Rechts das vollständig perfundierte Korrosionspräparat eines Kontrolltieres, links der Gefäßbaum eines Tieres mit beidseitigem Karotisverschluß. Über die paarigen Aa. vertebrales kommt es zur Perfusion des Hirnstammes und Kleinhirns. Das gesamte Versorgungsgebiet der A. carotis communis, das Frontalhirn, der vordere Gesichtsschädel und seine Organe bleiben für die Dauer der Okklusion ohne Zufluß. Deutlich zu sehen sind die Ausgüsse der Sinus transversales als Zeichen eines Übertritts des Kunststoffes vom arteriellen in den venösen Schenkel.

Bei keinem der 10 angefertigten Präparate waren Anastomosen zwischen dem vertebrobasilarem und dem System der A. carotis communis nachweisbar, wie sie von Levy (1974) und Schonfeld (1979) beschrieben wurden. Diese Beobachtungen bestätigen die

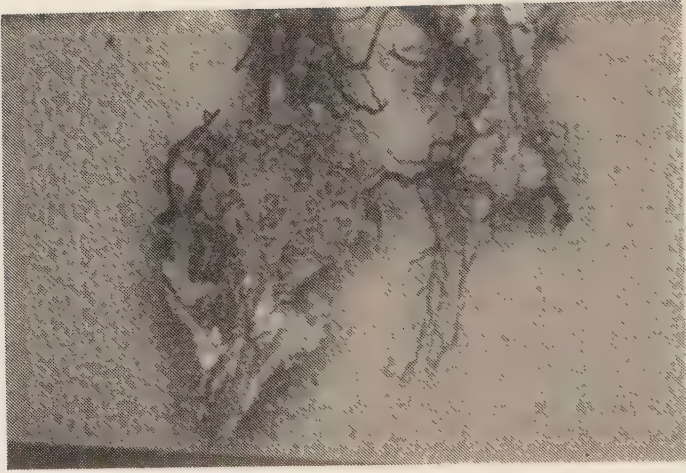


Abbildung 9:

Korrosionspräparate des arteriellen Gefäßbaums der Hals- und Kopfgegend von Gerbils vor (links) und während einer bilateralen Karotis-Okklusion (rechts). Die niedervisköse Kunststoffmischung wurde in beiden Fällen in den linken Herzventrikel injiziert. Während der beidseitigen Karotis-Okklusion erfolgt die Blutzufuhr zum Gehirn über die Aa. vertebrales. Dabei ist im Versorgungsgebiet des zentralen Nervensystems die Perfusion des Rückenmarks, des Kleinhirns, der Medulla oblongata und des Hirnstamms erhalten, während das gesamte Vorderhirn wegen des inkompletten Circulus willisi ohne Blutversorgung bleibt. Von der Ischämie sind ebenfalls die vorderen Anteile des Gesichtsschädels und seine Organe betroffen. Als Zeichen der Kapillargängigkeit ist der Übertritt des Kunststoffs in den venösen Schenkel (Sinus transversales) zu werten.

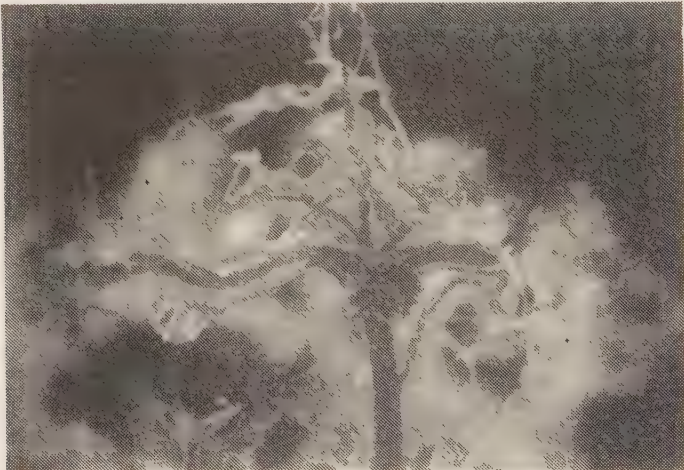


Abbildung 10:

Darstellung der Aufzweigungsstelle der A. basilaris in die paarigen Aa. cerebellaris superiores während einer bilateralen Karotis-Okklusion im Korrosionspräparat. Anstelle der Aa. posterior comm., die bei anderen Tieren Anschluß an das Gefäßsystem der A. carotis int. finden, lassen sich nur kleine rostral gerichtete Gefäßbüschel nachweisen

Ergebnisse mehrerer Untersuchungen (Levine 1969; Kahn 1972; Berry 1975; Donadio 1982).

Die A. basilaris, aus den paarigen Aa. vertebrales und der A. spinalis entstanden, geht an ihrem Ende in zwei Aa. cerebellaris superiores über. Anstelle der Aa. posterior communicantes entspringen an ihrer Teilungsstelle kleine rostral gerichtete, auf den Hypothalamus zu laufende Arterien, die jedoch keinen Anschluß an die Aa. cerebri posteriores und das Karotissystem finden (Kahn 1972). (Abb. 10)

Bei Untersuchungen an 6 Tieren im Alter von 21 Tagen konnten im Korrosionspräparat ebenfalls keine kollateralen Verbindungen zum Versorgungsgebiet der A. carotis communis festgestellt werden. Die Präparate glichen denen adulter Tiere mit beidseitiger Karotis-Okklusion. Dieser Befund steht im Gegensatz zu Beobachtungen von Matsuyama (1983), der durch intravitale Tuscheperfusionen bei juvenilen Gerbils während eines beidseitigen Karotisverschlusses zeigen konnte, daß bei 3 von 8 Tieren im Alter von 3-4 Wochen beide Großhirnhemisphären homogen angefärbt wurden; d.h. es muß eine funktionelle, kollaterale Verbindung zwischen beiden Gefäßsystemen bestehen. Bei älteren Tieren ließ sich diese Beobachtung in keinem einzigen Fall machen.

3.2 VERSUCHSGRUPPEN MIT AUSSCHLIEßLICHER KÄFIGHALTUNG

3.2.1 Überlebensrate und -zeit

Abb. 11 zeigt die Verläufe der Überlebenskurven nach Ischämien unterschiedlicher Dauer.

Nach 30 minütiger Ischämie starben 2/3 aller Tiere innerhalb der ersten 24h. Sie zeigten wie auch alle anderen Tiere der Versuchsgruppe, die länger überlebten, eine schwere Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens mit neurologischen Ausfallserscheinungen wie z.B. Ptosis, Kreisbewegungen ("Circling Behavior"), Hemiparese. Die Tiere verharrten in Hockstellung mit gesträubtem Fell bis zum Eintritt des Todes (Kahn 1972). Nach 5 Tagen betrug die Mortalität 100%.

Die Verläufe nach 20 und 15min Ischämie gleichen sich:

Es ließ sich eine initiale Mortalitätsphase (15 bzw. 25% der Tiere) am 1. und 2. Tag nach der Ischämie und eine prominente 2. Phase zwischen dem 4. und 9. Tag unterscheiden. Beim Vergleich der Überlebensraten nach 14 Tagen ohne Berücksichtigung der Anfallssneigung ergaben sich Überlebensraten von 44% nach 15min bzw. 21% nach 20min Ischämie. Die Werte sind statistisch nicht signifikant verschieden. Allerdings war in beiden Gruppen das Merkmal der Anfallssneigung sehr ungleich verteilt. Während 44% der Tiere der Gruppe mit 15min Ischämie keine Krampfneigung zeigten,

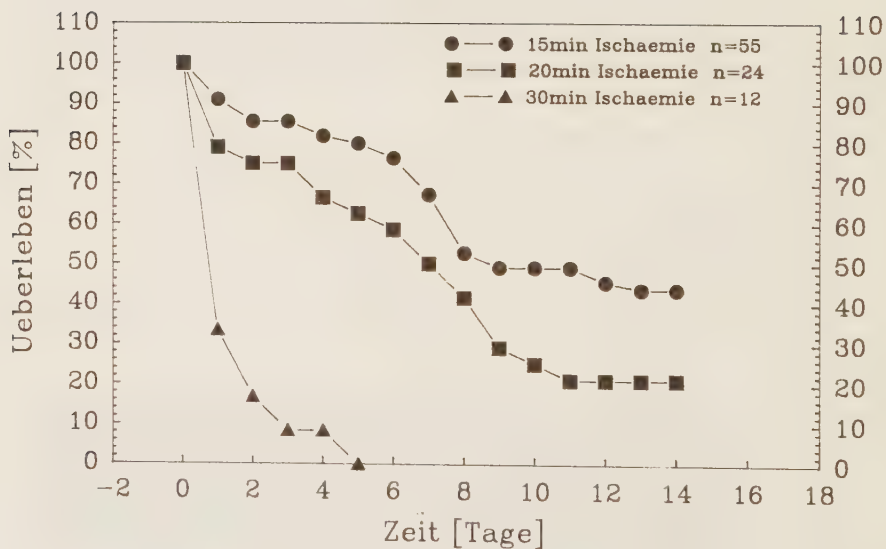


Abbildung 11:

Vergleichende Darstellung der Überlebensraten in % von Gerbils in konventioneller Käfighaltung nach 15, 20 und 30min bilateraler Karotis-Okklusion. Tiere mit und ohne Anfallsdisposition sind in den einzelnen Versuchsgruppen zusammengefaßt. Die Mortalität der Gruppe mit 30min Ischämie ist zu allen Zeitpunkten signifikant größer als die der beiden anderen Gruppen ($p < 0.01$). Die Überlebensraten nach 15 und 20min sind statistisch nicht verschieden.

waren bei allen Tieren der 20min-Gruppe Anfälle nachweisbar.

Bei Berücksichtigung der Anfallsdisposition der Tiere ergab sich folgendes Bild (Abb. 12):

Gerbils mit Krampfnäigung (seizure positiv, "S+") hatten nach 15min Ischämie mit 55% eine signifikant bessere Überlebensrate als Gerbils ohne Anfallsneigung (seizure negativ, "S-") mit 29%.

Die Verlängerung der Ischämiedauer auf 20min führte bei Tieren mit Anfallsneigung zu einer signifikanten Verminderung der Überlebensrate. Die zwei Hauptphasen des Mortalitätsverlaufes lassen sich an allen 3 Kurven verifizieren, wobei die Initialphase bei den (S+)-Tieren nach 15min deutlich flacher verläuft.

3.2.2 Körpergewicht

Neben einem gestäubten Haarkleid zeigten alle Tiere innerhalb der ersten 48h nach der Ischämie als sichtbare Veränderung einen Verlust an Körpermasse, der durch einen verminderten Bauchumfang, eingefallene Flanken und ein Hervortreten der tastbaren Knochenpunkte charakterisiert war. Während bei moribunden Tieren eine bis zum Tode fortschreitende Abmagerung zu beobachten war, unterschied sich der Habitus der überlebenden Tiere eine Woche nach der Ischämie nicht von dem nicht-ischämischer Gerbils.

Im Anschluß an eine erste Versuchsreihe, in der der Körpergewichtsverlust nach der Ischämie auffiel, wurde bei allen weiteren Experimenten die Gewichtsentwicklung der Versuchstiere durch tägliche Messungen als prozentuale Veränderung gegenüber dem präischämischen Kontrollgewicht registriert. Es zeigte sich, daß der größte Gewichtsverlust bereits innerhalb der ersten 24h nach Reperfusion eintrat.

Abb. 13 zeigt als Einzelmessung den absoluten Gewichtsverlust eines Gerbils in den ersten 24 Stunden nach 15min Ischämie. In der 4. Stunde nach Reperfusion begann ein dramatischer Gewichtsverlust, der im weiteren Verlauf durch halb- bis stündliche Wägungen registriert wurde. Nach 24h hatte das Tier 10g oder 12% des Körpergewichtes verloren. Das Tier verstarb am 5. Tag mit einem Gewichtsverlust von 36%.

3.2.2.1 15min Ischämie

Einen deutlichen Unterschied ergab der Vergleich der Gewichtsentwicklungen von Tieren, die im weiteren Versuchszeitraum starben mit denen, die die zerebrale Ischämie überlebten (Abb. 14).

Bereits 24h nach Ischämie war der Gewichtsverlust der moribunden Gruppe mit 13.2% größer als der überlebenden Tiere mit 11.0%. Dieser Unterschied ist jedoch statistisch

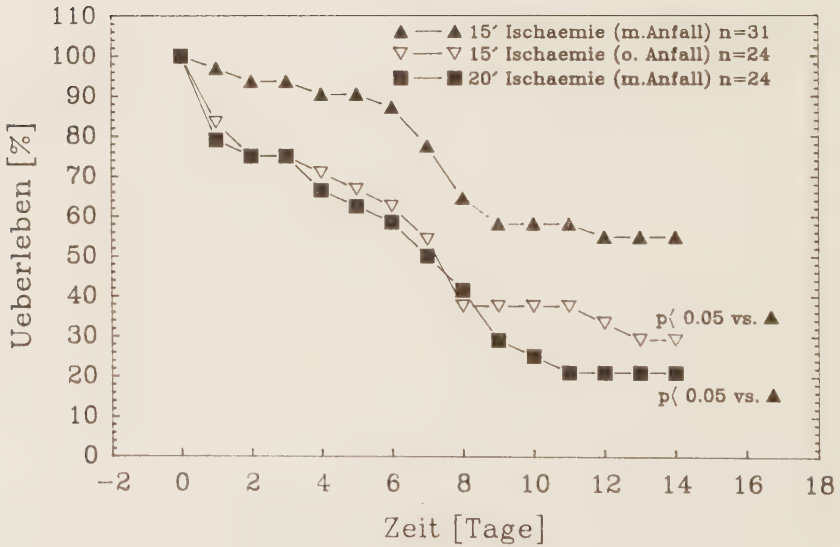


Abbildung 12:

Dargestellt sind die Überlebensraten von Gerbils mit und ohne Krampfneigung nach 15 und 20min Ischämie. Tiere mit Anfallsdisposition hatten nach 15min Ischämie eine signifikant höhere Überlebensrate als nach 20min und als anfallsfreie Tiere nach 15min Ischämie.

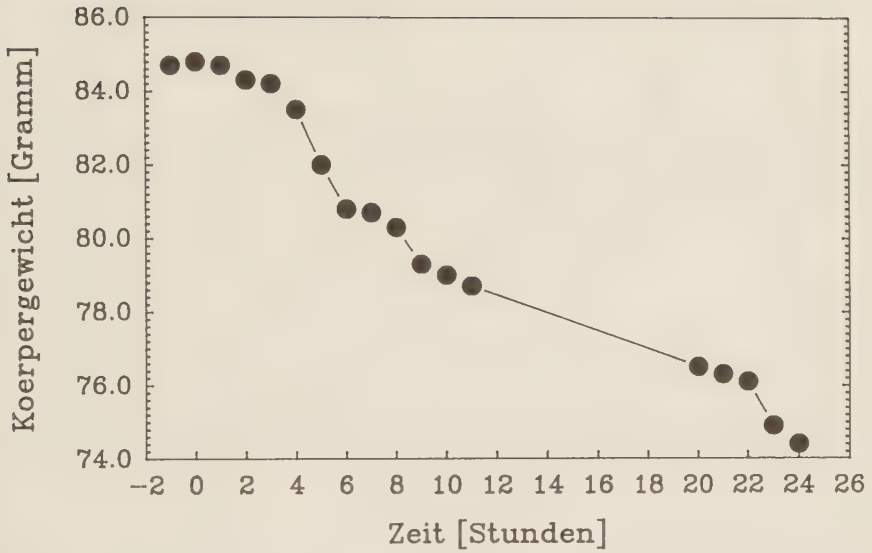


Abbildung 13:

Gewichtsverlust eines einzelnen Gerbils nach 15min Ischämie innerhalb der ersten 24h der Reperfusion. Die Messungen erfolgten im Abstand von 30-60min.

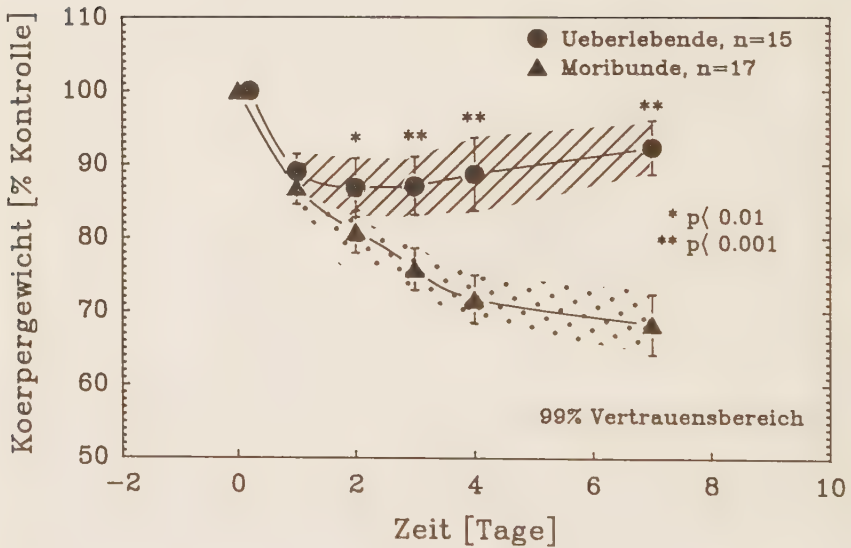


Abbildung 14:

Gewichtsentwicklung überlebender und moribunder Tiere in Käfighaltung nach 15min Ischämie in % des präischämischen Kontrollgewichts. Die schraffierten bzw. gepunkteten Flächen geben die Vertrauensbereiche (99%) wieder. Am 3. postischämischen Tag war eine sichere Prognose bzgl. des Überlebens möglich.

nicht signifikant. Die Gruppe der überlebenden Tiere erreichte mit durchschnittlich 86.8% am 2. postischämischen Tag den Tiefpunkt ihres Körpergewichts; sie unterschied sich bereits zu diesem Zeitpunkt signifikant in der Gewichtsentwicklung von den Tieren mit tödlichem Verlauf ($p < 0.01$). Der mittlere Gewichtsverlust dieser Gruppe betrug am 4. Tag 29%, am 7. Tag 32%, wobei einzelne Tiere bereits am 4.Tag bis zu 38% ihres Kontrollgewichtes verloren. Alle Tiere hatten zum Zeitpunkt des Todes ein Körpergewicht von weniger als 68-66% des Kontrollgewichtes, in Einzelfällen weniger als 56%.

Werden die Versuchsgruppen nach ihrer Anfallsneigung getrennt betrachtet, ergibt sich folgendes Bild: (Abb. 15)

(S-) Tiere der moribunden wie überlebenden Gruppe hatten tendenziell größere Gewichtsverluste (4.Tag p.op.: 69.4 und 84.6% des Kontrollgewichtes) als (S+)-Tiere (4.Tag p.op.: 73.6 und 90.1%); die Unterschiede sind jedoch nicht signifikant.

3.2.2.2 20min Ischämie

Für diese Versuchsreihe wurden ausschließlich (S+)-Tiere verwendet (s. 3.2.1).

Bereits am 1.Tag nach Ischämie war der Körpergewichtsverlust der überlebenden Tiere signifikant geringer als der moribunder Tiere ($p < 0.01$). Auch an allen anderen Tagen lag der Gewichtsverlust dieser Gruppe signifikant unter dem der Tiere mit letalem Verlauf ($p < 0.001$). Ein maximaler Gewichtsverlust von 13% war bei den überlebenden Tieren am 3. Tag nach Ischämie erreicht. Bei moribunden Gerbils betrug das mittlere Körpergewicht am 4. Tag 76% und am 7. Tag nach der Ischämie 66% des Kontrollgewichtes.

3.2.2.3 Nicht-ischämische Tiere

Zur Klärung der Frage, inwieweit eine verminderte bzw. fehlende Futter- und Flüssigkeitsaufnahme nach Ischämie ursächlich an dem Gewichtsverlust beteiligt war, wurde zunächst der Einfluß eines Nahrungs- und Trinkwasserentzugs auf die Gewichtsentwicklung nicht-ischämischer Tiere untersucht.

Abb. 16 zeigt die prozentualen Gewichtsveränderungen von 4 Versuchsgruppen unter 4 verschiedenen Fütterungsbedingungen über einen Zeitraum von 4 Tagen. Das Ausgangsgewicht aller Tiere betrug 60 bis 65g. Die Kontrollgruppe mit ad libitum Fütterung und Wasseraufnahme unterschied sich zu allen Meßzeitpunkten signifikant ($p < 0.05$) von den anderen 3 Versuchsgruppen.

Tag 1: Die Gewichtsverluste der einzelnen Gruppen mit Futter- und/oder Wasserentzug lagen zwischen 6.2 und 8.8% des Kontrollgewichtes und waren nicht signifikant verschieden voneinander. Der mittlere

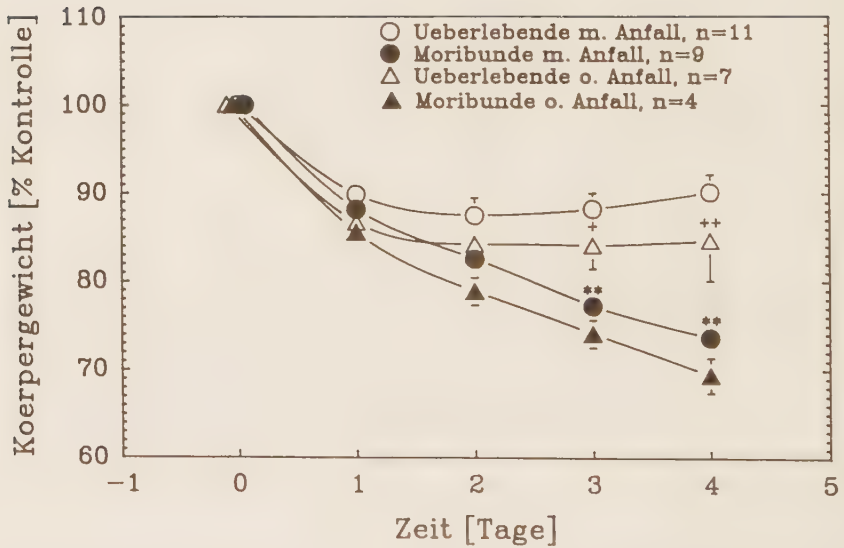


Abbildung 15:

Vergleichende Darstellung der Gewichtsentwicklung von überlebenden und moribunden Gerbils unter Berücksichtigung ihrer Anfallsneigung. (+ $p < 0.05$; ++ $p < 0.01$ vs. Δ ;

** $p < 0.001$ vs. $\bigcirc$).

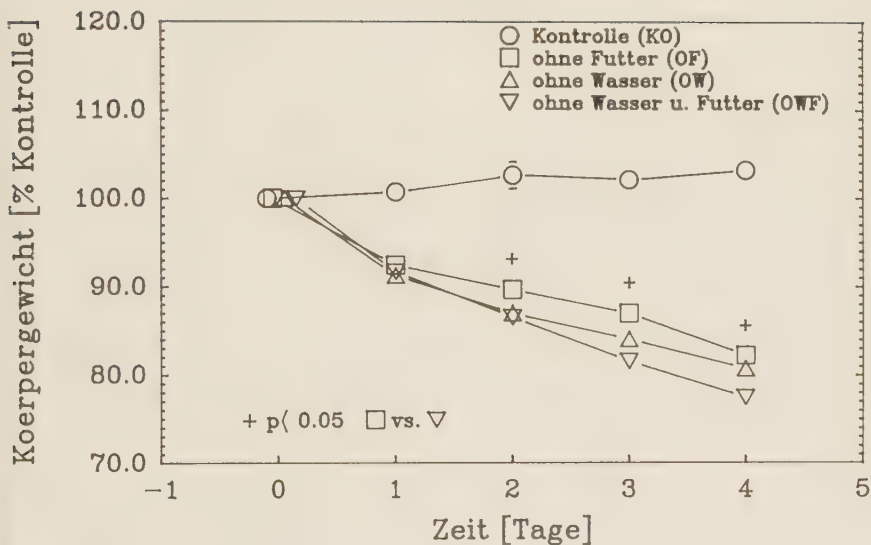


Abbildung 16:

Gewichtsentwicklung nicht-ischämischer Gerbils unter verschiedenen Fütterungsbedingungen. Die 3 Versuchsgruppen mit unterschiedlichen Fütterungsrestriktionen (je $n=4$) unterschieden sich an allen Meßtagen signifikant ($p < 0.05$) von der Kontrollgruppe ($n=4$). Ab dem 2. Tag war der Gewichtsverlust von Tieren ohne Futter signifikant geringer als von Tieren ohne Wasser und Futter.

Gewichtsverlust der Gruppe ohne Futter (OF) schien jedoch tendenziell geringer zu sein als der von Gruppen ohne Wasser (OW) und ohne Futter und Wasser (OWF).

Tag 2-4: Den größten Gewichtsverlust innerhalb des Meßzeitraumes erlitt die Gruppe (OWF) mit 22.6% des Kontrollgewichtes. Die Versuchsgruppe unterschied sich an allen 3 Tagen signifikant von (OF), nicht aber von der Gruppe mit Trinkwasserentzug (OW). Gegenüber (OF) war der Gewichtsverlust von (OW) nur am 3. Versuchstag signifikant größer.

3.2.2.4 Nahrungsaufnahme

Die Gewichtsveränderungen nicht-ischämischer Tiere mit Nahrungsentzug zeigten, daß die bei Tieren in den ersten Tagen nach der Ischämie beobachteten Gewichtsverluste nicht ausschließlich durch Aphagie und Adipsie bedingt sein können. Durch tägliche Bestimmung des Futter- und Wasserverbrauchs sollte die tatsächliche Beteiligung einer verminderten Nahrungsaufnahme in der postischämischen Phase an der Gewichtsentwicklung geklärt werden.

Der mittlere Futterverzehr aller Tiere ($n=23$) betrug 4.6 ± 0.2 g Futter/Tier und Tag. Dies entspricht bei einem durchschnittlichen Körpergewicht von 73.1g/Tier einem mittleren Futterverbrauch von 6.3g/100g KG.

In einem präischämischen Kontrollzeitraum von 8 Tagen war die Futteraufnahme der überlebenden Tiere mit 4.5 ± 0.4 g Futter/Tier und Tag von der der moribunden mit 4.7 ± 0.2 nicht verschieden. Nach vollständigem Sistieren der Nahrungsaufnahme am ersten postischämischen Tag in beiden Gruppen hatten die überlebenden Tiere mit ca. 1g Futter/Tier und Tag eine Wiederaufnahme der Freßaktivität. Am 4. Tag nach Ischämie unterschied sich die Futtermenge nicht mehr von der des Kontrollzeitraumes. Tiere hingegen, die nach der Ischämie innerhalb des Versuchszeitraumes starben, zeigten bis zu ihrem Tod eine in allen Fällen irreversible Aphagie.

In Abb. 17 ist auch die Nahrungsaufnahme von Gerbils dargestellt, die vor Ischämie in Laufkäfigen gehalten und unmittelbar danach in konventionelle Käfige gebracht wurden. Eine Bestimmung des präischämischen Futterverzehrs war aus meßtechnischen Gründen bei dieser Gruppe nicht möglich (siehe 2.6.2). Das Freßverhalten dieser Gruppe entsprach dem der anderen überlebenden Gerbils.

3.2.2.5 Wasseraufnahme

Der mittlere Wasserverbrauch betrug in der Kontrollphase 6.9 ± 0.3 ml H_2O /Tier und Tag, was einer Wasseraufnahme von 9.4ml /100g KGW bzw. 9.4% des Körpergewichtes ent-

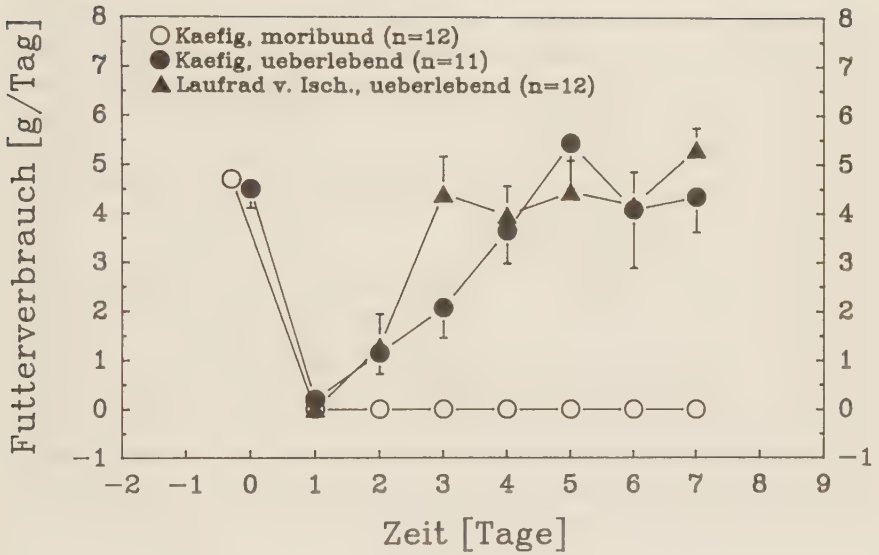


Abbildung 17:

Täglicher Futterverbrauch von Gerbils nach 15min Ischämie unter verschiedenen Haltungsbedingungen. Der Verbrauch am Tag 0 entspricht dem aus 8 Messungen gemittelten präischämischen Kontrollwert bei ad lib. Fütterung. Bei der Gruppe, die vor Ischämie in Laufradkäfigen und anschließend in normalen Käfigen gehalten wurde, konnte aus meßtechnischen Gründen kein Kontrollwert ermittelt werden.

spricht. McManus (McManus 1972) ermittelte bei Fütterung von getrocknetem Alleinfuttermittel für Labornager einen täglichen Trinkwasserbedarf von $9.63 \pm 0.5\%$ des Körpergewichtes für adulte Gerbils.

Die Wasseraufnahme der moribunden Tiere vor Ischämie entsprach mit 6.95 ± 0.1 ml Tier und Tag der von überlebenden Tieren mit 6.75 ± 0.3 ml. Beide Gruppen hatten nach der Ischämie eine vorübergehende Adipsie. Innerhalb von 4-5 Tagen erreichten die überlebenden Tiere ihr Ausgangsniveau und zeigten in den folgenden Tagen einen weiter ansteigenden Verbrauch. Am 9. postischämischen Tag hatten die Tiere ungefähr den doppelten Trinkwasserbedarf gegenüber der Kontrollphase. Bei moribunden Tieren beobachtete man eine langanhaltende, ausgeprägte Depression der Trinkaktivität. Einzelne Tiere hatten eine bis zum Tod andauernde Adipsie, während sich bei anderen Tieren nach ungefähr einer Woche bis zum Tode eine Steigerung der Wasseraufnahme beobachten ließ (Abb. 18).

Das Trinkverhalten der Tiere, die vor der Ischämie in Laufradkäfigen gehalten wurden, entsprach den bei der Nahrungsaufnahme gemachten Beobachtungen. Am ersten Tag nach Ischämie wurde fast keine Flüssigkeitsaufnahme registriert, am 2. Tag entsprach sie den Kontrollmengen der Käfigtiere. Da keine präischämischen Bedarfswerte für Laufradtier ermittelt werden konnten, kann die am 3. postischämischen Tag aufgenommene, mittlere Trinkwassermenge von ca. 11ml/Tier nur als relative Polydipsie angesprochen werden. Auch an den weiteren Meßtagen blieb der Wasserverbrauch um ca. 2/3 über dem Bedarf der Kontrollperiode der Käfigtiere.

3.2.2.6 Bedeutung des Körpergewichtes für die Überlebenszeit

Obwohl alle moribunden Tiere eine vollständige und irreversible Aphagie und Adipsie zeigten, unterschieden sich die relativen Gewichtsverluste nach 3-4 Tagen um bis zu 10%. Abb. 19 zeigt die Korrelation zwischen Gewichtsverlust und Überlebenszeit. Die beiden Größen stehen in direkter Beziehung zueinander, ein rascherer Gewichtsverlust war mit einer kürzeren Überlebensdauer verbunden. Auf der Ordinate ist der gemittelte relative Gewichtsverlust der moribunden Tiere ($n=35$) am 3. Tag nach 15 und 20min Ischämie aufgetragen, auf der Abszisse die entsprechende Überlebensdauer der Tiere. Der Korrelationskoeffizient $r = 0.84$ der Regressionskurve ($y = 33.0 - 1.17x$) ist hochsignifikant ($p < 0.001$).

3.2.2.7 15min Ischämie unter verschiedenen präischämischen Fütterungsbedingungen

Die bisherigen Untersuchungen ergaben, daß Tiere mit einem Gewichtsverlust von $>32\%$ nicht überlebten. Aus dieser Beobachtung ergab sich die Frage, ob moribunde Tiere nach Erreichen einer kritischen Gewichtsgrenze an Futter- und Wassermangel

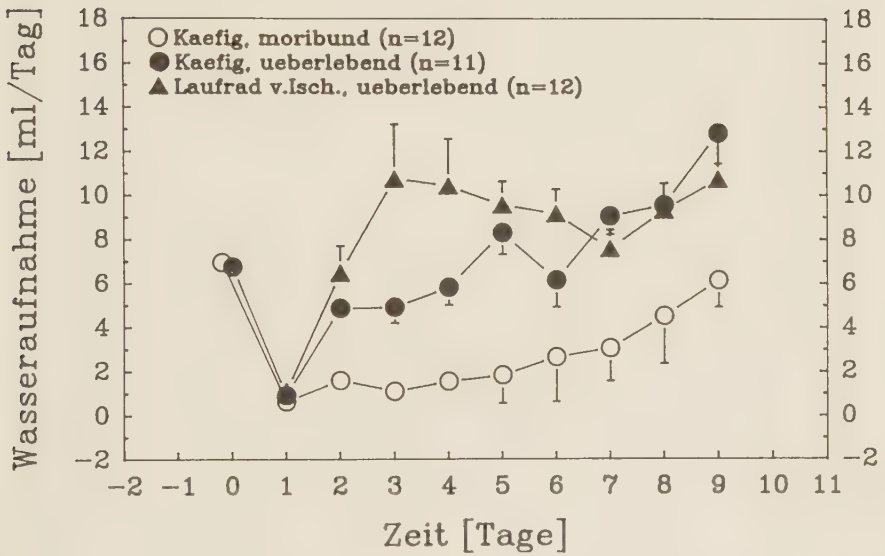


Abbildung 18:

Trinkwasserverbrauch von überlebenden oder moribunden Gerbils in Laufkäfig- oder konventioneller Käfighaltung. Der Kontrollverbrauch wurde in einer 8-tägigen, prä-schämischen Meßphase ermittelt. Entsprechende Bestimmungen konnten bei Tieren in Laufradkäfigen nicht durchgeführt werden.

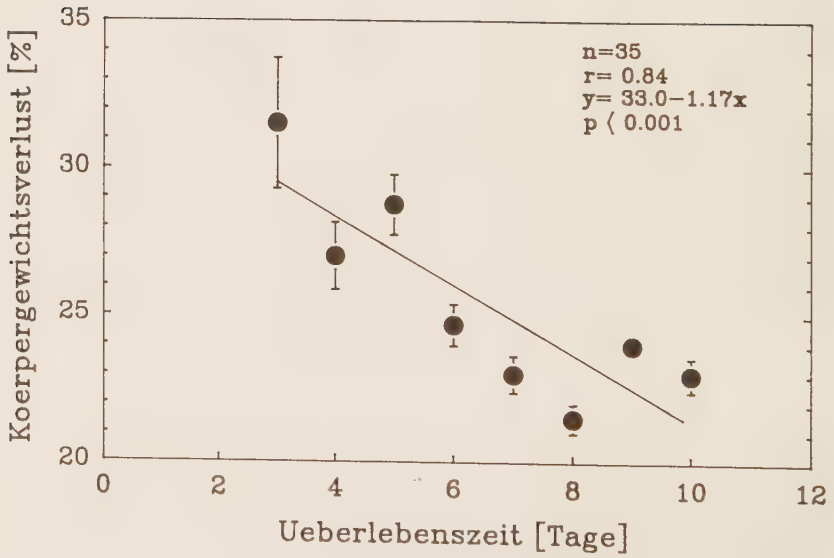


Abbildung 19:

Korrelation zwischen der Überlebensdauer moribunder Tiere nach 15 und 20min Ischämie und dem Gewichtsverlust am 3. postischämischen Tag. Dargestellt ist jeweils der mittlere Körpergewichtsverlust in % aller Tiere mit gleicher Überlebensdauer.

sterben. Zur Klärung wurde daher in zusätzlichen Versuchsreihen untersucht:

- 1) Welchen Einfluß hat ein präischämischer Futter- und Trinkwasserentzug auf den drastischen Gewichtsverlust nach Ischämie?
- 2) Beeinflußt ein präischämischer Futter- und Wasserentzug das Freß- und Trinkverhalten nach Ischämie?
- 3) Führt ein präischämisch reduziertes Körpergewicht zu einem rascheren Erreichen der kritischen Gewichtsgrenze, und wird dadurch die Überlebensrate einer Versuchsgruppe nach einer zerebralen Ischämie von 15min Dauer beeinflußt?

1) Körpergewicht

In Abb. 20 sind die Verläufe des Körpergewichts bezogen auf das Ausgangsgewicht zu Versuchsbeginn von 3 Versuchsgruppen mit unterschiedlichen präischämischen Haltungsbedingungen dargestellt. Bei allen Gruppen wurden die Werte der moribunden und überlebenden Tiere gemeinsam berücksichtigt.

Als Referenzgruppe F0 dienten die unter 3.2.2.2 aufgeführten Tiere ($n=32$), die bis unmittelbar vor der Ischämie ad lib. Zugang zu Futter und Wasser hatten. Die beiden anderen Gruppen F1 und F4 ($n=8$) wurden bis zum Zeitpunkt der Ischämie 1 bzw. 4 Tage unter Futter- und Wasserentzug gehalten. Das mittlere Körpergewicht dieser Versuchsgruppen betrug bei Induktion der Ischämie 90.8 bzw. 80.5% des Ausgangsgewichtes.

Die postischämische Gewichtsentwicklung der Versuchsgruppen ist in Abb. 21 im Detail dargestellt. Um die unterschiedlichen Verlaufskurven vergleichen zu können, wurden die postischämisch auftretenden Gewichtsveränderungen auf das zum Zeitpunkt der Ischämie ermittelte Gewicht (=100%) bezogen. Tiere der Gruppe F4 hatten an allen 3 Tagen signifikant geringere Gewichtsverluste als Tiere der Gruppe F0 ($p < 0.01$). Auch gegenüber der Gruppe F1 war der Verlust am 1.Tag signifikant, an den folgenden Tagen tendenziell geringer. Die Gewichtsentwicklung der Gruppe F1 unterschied sich statistisch nicht von den Werten der Gruppe F0. Bei der Gruppe F4 unterschied sich das mittlere Körpergewicht am 3. Tag nach Ischämie nicht vom präischämischen Kontrollgewicht. Bei den beiden anderen Gruppen war das Körpergewicht am 3. Tag gegenüber den präischämischen Werten signifikant verringert (F0: $p < 0.0001$; F1: $p < 0.05$).

2) Futter- und Wasseraufnahme

Die Ergebnisse spiegeln die Beobachtungen der Entwicklung des Körpergewichts wider. Als einzige aller registrierten Versuchsgruppen fraßen die überlebenden Tiere der

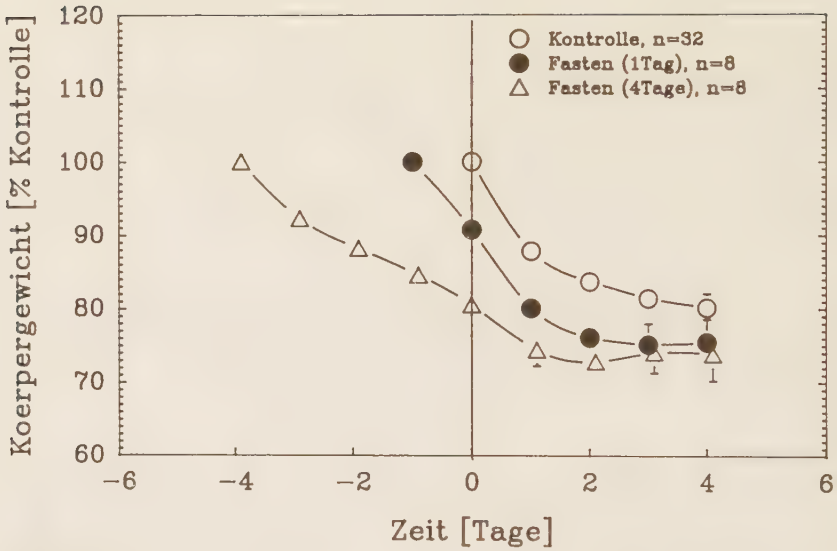


Abbildung 20:

Gewichtsverläufe von 2 Versuchsgruppen mit ein- (Gruppe F1) und viertägigem (Gruppe F4), präischämischen Futter- und Wasserentzug vor und nach einer 15min Ischämie. Als Kontrollen dienten Tiere, die bis zur Induktion der Ischämie ad lib. gefüttert wurden (Gruppe F0). Das Körpergewicht ist in % des Kontrollgewichtes vor Fastenbeginn angegeben. Die einzelnen Kurven stellen jeweils den mittleren Gewichtsverlauf moribunder und überlebender Tiere einer Versuchsgruppe dar.

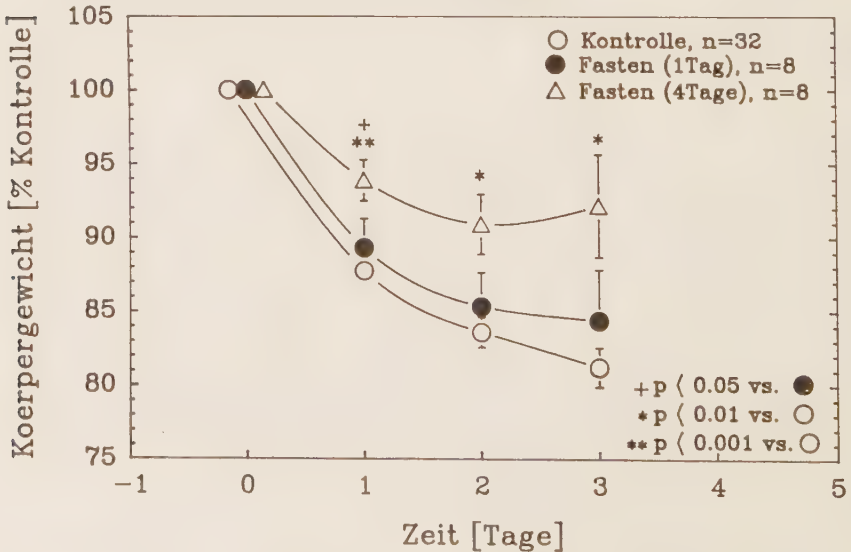


Abbildung 21:

Gewichtsverläufe nach 15min Ischämie von 2 Versuchsgruppen mit ein- (Gruppe F1) und viertägigem (Gruppe F4) präischämischen Futter- und Wasserentzug im Vergleich zu einer Gruppe mit Fütterung ad lib. (Gruppe F0). Die relativen Gewichtsbestimmungen beziehen sich auf das Körpergewicht zum Zeitpunkt der Ischämieinduktion (=100%).

Gruppe F4 bereits am 1. Tag nach der Ischämie $1.4 \pm 1.0\text{g}$ Futter. Am 3. postischämischen Tag entsprach die mittlere tägliche Futtermenge ($4.5 \pm 0.9\text{g}$) der nicht-ischämischer Gerbils.

Überlebende Tiere der Gruppe F1 begannen, ähnlich den Tieren ohne Nahrungsrestriktion, am 2. postischämischen Tag wieder mit der Nahrungsaufnahme; die verzehrte Futtermenge blieb aber im Mittel während des 1-wöchigen Meßzeitraumes unter der Kontrollmenge von ca. 4.5g Futter/Tag. Moribunde Gerbils beider Versuchsgruppen zeigten bis zum Eintritt des Todes eine vollständige Aphagie.

Das Trinkverhalten der einzelnen Gruppen entsprach den Ergebnissen der Futteraufnahme. Moribunde Tiere beider Gruppen tranken im Mittel Flüssigkeitsmengen von $0-2\text{ml/Tag}$. Bei den überlebenden Tieren stieg der Trinkwasserverbrauch der Ischämie in der Gruppe F4 rascher auf ein stabiles Niveau an (ca 8ml/Tag) als bei Tieren der Gruppe F1. Bei Überlebenden beider Gruppen verlief die Entwicklung des postischämischen Futter- und Wasserverbrauchs synchron (Abb. 22a und b).

3) Überlebensrate

Mit 47% war die Überlebensrate der Referenzgruppe F0 von denen der beiden Gruppen F1 und F4 mit je 50% statistisch nicht verschieden (Tab. 4). In den Gruppen F1 und F4 verstarben alle moribunden Tiere zwischen dem 4. und 10. Tag nach Ischämie.

Tabelle 4: Überlebensraten von Gerbils nach 15min Ischämie unter verschiedenen präischämischen Fütterungsbedingungen

Gruppe	S +	S -	Überleben %	Überleben (gesamt)
F0	20		55	
		12	33	
				47
F1	3		66	
		5	40	
				50
F4	3		66	
		5	40	
				50

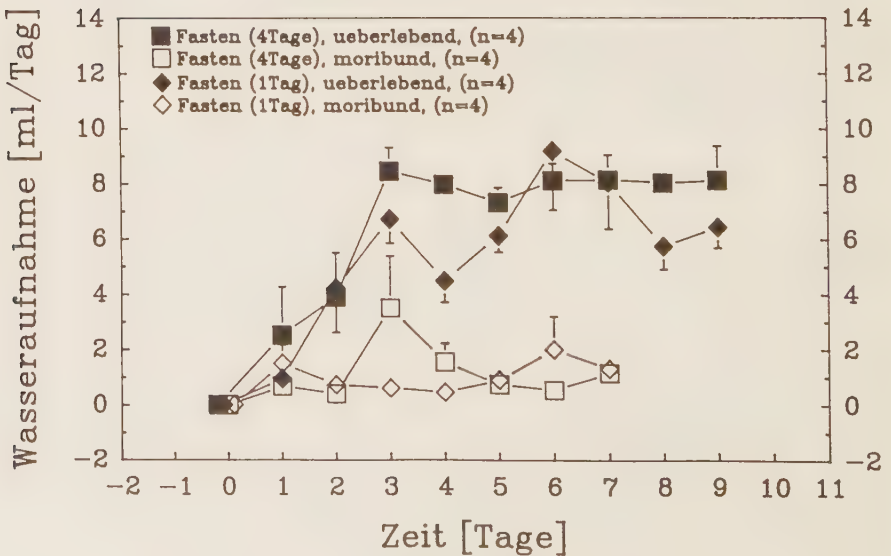
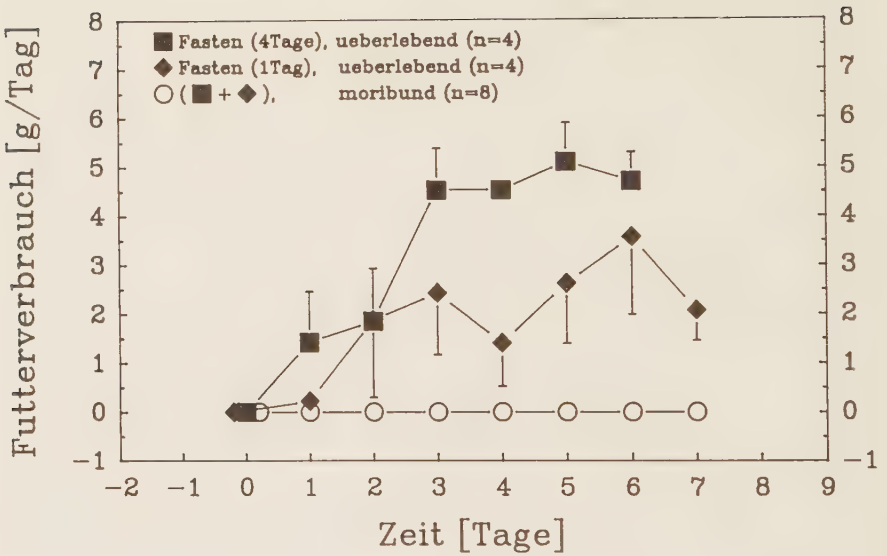


Abbildung 22a und b:

Postischämischer Futter- (oben) und Wasserverbrauch (unten) von Gerbils, die vor einer 15min Ischämie 1 oder 4 Tage ohne Futter und Wasser gehalten wurden. Überlebende und moribunde Tiere der Versuchsgruppen sind getrennt abgebildet.

3.2.3 Laborbefunde

3.2.3.1 Hämatokrit und Plasmaosmolarität

3.2.3.1.1 Nicht-ischämische Versuchsgruppen

In den Abb. 23a, b, c und d sind die Veränderungen des Hämatokrits und der Plasmaosmolarität nach 4 Tagen unter verschiedenen Fütterungsbedingungen wiedergegeben. Die Kontrollwerte betrugen im Mittel 48.0% bzw. 310 mOsmol/l Plasma.

Die Veränderungen bei Futter- (Gruppe OF) oder Wasserentzug (Gruppe OW) waren gleichsinnig, wobei Wasserentzug einen größeren Einfluß auf die Homöostase zu haben schien. Bei Tieren ohne Trinkwasser stieg der Hämatokrit um 3%, hingegen um 1% bei Futterkarenz. Bei beiden Versuchsgruppen nahm die Plasmaosmolarität um ca. 20 mOsmol/l zu, bei den (OW)-Tieren wies dieser Parameter jedoch einen großen Standardfehler auf. Bei völligem Futter- und Wasserentzug (Gruppe OWF) war der Anstieg des Hämatokrits auf 50% geringer als bei der Gruppe OW. Hier stieg der Hämatokrit auf 51.3% an. Die Veränderungen der Plasmaosmolarität betrugen durchschnittlich 25 mOsmol/l, sie zeigten jedoch ebenfalls große individuelle Schwankungen. Die Ergebnisse konnten wegen der kleinen Stichprobenzahl ($n=4$) pro Versuchsgruppe statistisch nicht geprüft werden.

3.2.3.1.2 15min Ischämie

Die Untersuchungen mit teilweisem oder komplettem Futterentzug bei nicht-ischämischen und ischämischen Tieren zeigen, daß das Ausmaß des postischämischen Gewichtsverlusts, vor allem moribunder Tiere, nicht ausschließlich durch die vorübergehende oder permanente Aphasie und Adipsie bedingt sein kann. Auch ein dramatischer Flüssigkeitsverlust nach Ischämie könnte zu einem großen Verlust an Körpermasse innerhalb weniger Tage führen. Es wurden deshalb die Veränderungen von Hämatokrit und Osmolarität bei ischämischen Tieren mit normaler Fütterung und mit ein- und viertägigem Futter- und Wasserentzug vor Ischämie bestimmt. Moribunde und überlebende Tiere einer Versuchsgruppe wurden getrennt gewertet.

(a) Tiere mit ad lib. Fütterung: Gruppe F0:

Bei moribunden Tieren kam es 4 Tage nach Ischämie zu einem signifikanten Anstieg des Hämatokrits um ca. 6.5% auf 54%. Der Anstieg der Osmolarität um ca. 20 mOsmol/l war ebenfalls signifikant gegenüber dem präischämischen Kontrollwert ($p < 0.05$). Die Gewichtsentwicklung der moribunden Tiere läßt vermuten, daß Hämatokrit und Plasmaosmolarität bis zum Zeitpunkt des Todes weiter

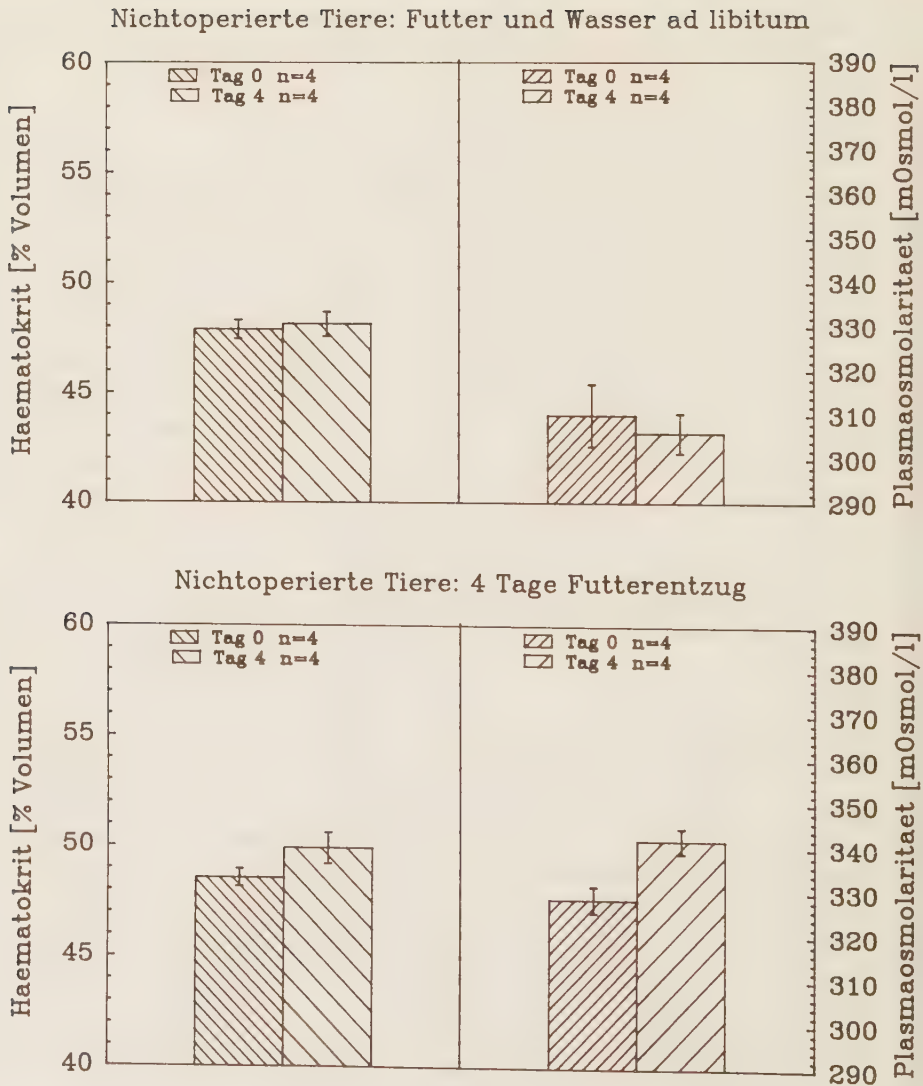
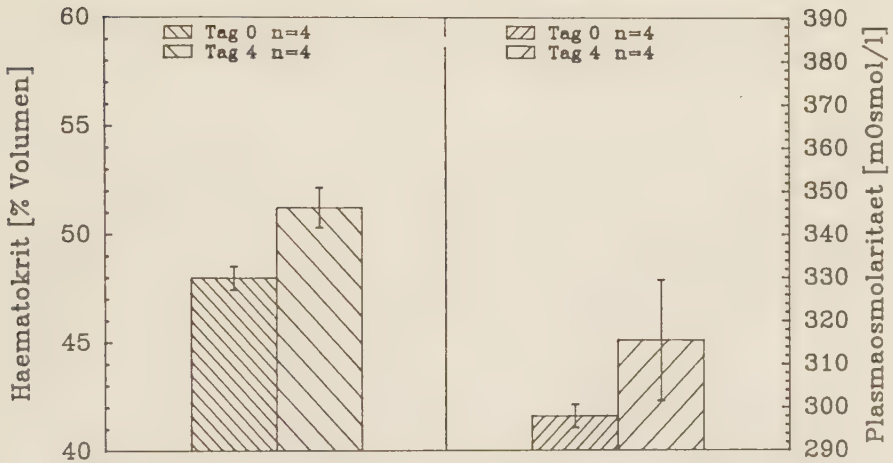


Abbildung 23a und b:

Veränderungen des Hämatokrits (linker Bildteil) und der Osmolarität im Plasma (rechter Bildteil) von nicht-ischämischen Gerbils bei freiem Zugang zu Futter und Wasser (oben) und bei Futterentzug (unten). Dargestellt ist jeweils der Meßwert vor Versuchsbeginn und am 4. Tag.

Nichtoperierte Tiere: 4 Tage Trinkwasserentzug



Nichtoperierte Tiere: 4 Tage Futter- und Wasserentzug

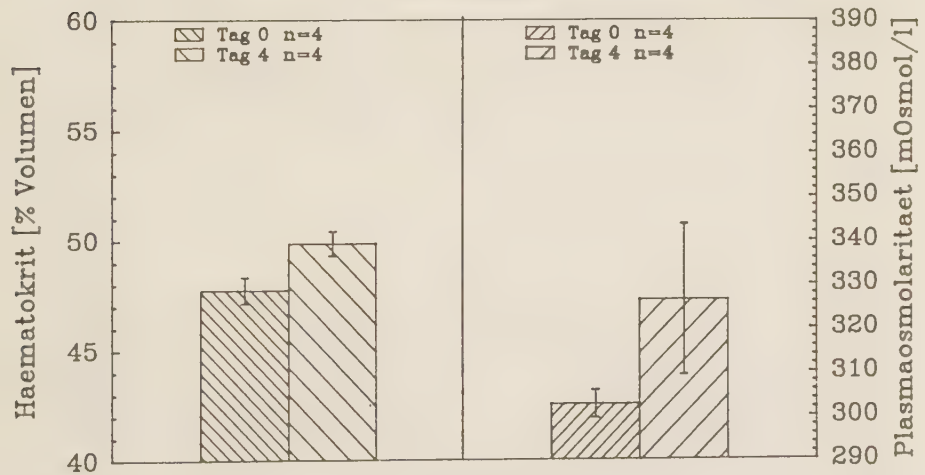


Abbildung 23c und d:

Veränderungen des Hämatokrits (linker Bildteil) und der Osmolarität (rechter Bildteil) von nicht-ischämischen Gerbils nach 4 Tagen bei Wasserentzug (oben) und bei gleichzeitigem Futter- und Wasserentzug (unten).

angestiegen sind.

Auch bei überlebenden Tieren dieser Versuchsgruppe waren die postischämischen Meßwerte erhöht, die Veränderungen waren jedoch nicht signifikant (Abb. 24 und 25).

(b) 24h Futter- und Wasserentzug: Gruppe F1:

Die Ergebnisse entsprachen den bei der Gruppe F0 gemachten Befunden. Der Hämatokrit war bei den moribunden Tieren am 4.Tag nach der Ischämie um 6.5% auf 54% signifikant erhöht ($p < 0.05$). Bei überlebenden Tieren war eine durchschnittliche, nicht signifikante Steigerung um ca 1.5% meßbar. Die Veränderungen der Osmolarität war in beiden Gruppen nicht signifikant.

(c) 4 Tage Futter- und Wasserkarenz: Gruppe F4:

Entsprechend den Befunden an nicht-ischämischen Tieren, die 4 Tage fasteten, war der Hämatokrit vor Ischämie nur geringfügig um ca. 1.5-2% erhöht, die Osmolarität lag mit ca. 315 mOsmol/l im Normbereich.

Bei überlebenden Tieren kam es innerhalb von 4 Tagen nach Ischämie zu einer Verminderung des Hämatokrits um ca. 6% im Durchschnitt, Einzelwerte wichen jedoch stark voneinander ab. Auch bei den moribunden Tieren war ein leichter, nicht signifikanter Abfall um ca. 1.5% zu beobachten. Parallel dazu kam es zu einer geringfügigen, nicht signifikanten Verringerung der Osmolarität bei beiden Gruppen (Abb. 26).

3.2.3.2 Blutglukose

In Abb. 27a, b und c sind die Ergebnisse zusammenfassend dargestellt. In keinem Fall ließen sich signifikante Unterschiede zwischen der präischämischen Konzentration und dem Befund 60sec nach Ende der 15min Ischämie nachweisen. Bei den Gruppen mit 4-tägiger präischämischer Nahrungs- und Wasserkarenz war ein tendenzieller Anstieg des Blutzuckers nach Ischämie zu beobachten. Alle gemessenen Einzelwerte befanden sich innerhalb des physiologischen Normbereichs. Die Befunde 4 Tage nach Ischämie entsprachen in allen Gruppen den Ausgangswerten.

3.2.3.3 Blutdruck

Die Untersuchungen wurden exemplarisch an 6 männlichen Gerbils nach dem Versuchsprotokoll durchgeführt. Abb. 28 zeigt das Profil des Blutdruckverlaufs während der 10-minütigen präischämischen Präparationsphase, der 15min Ischämie- und der anschließenden Reperusionsphase. Die chirurgische Darstellung der Halsgefäße war von einer

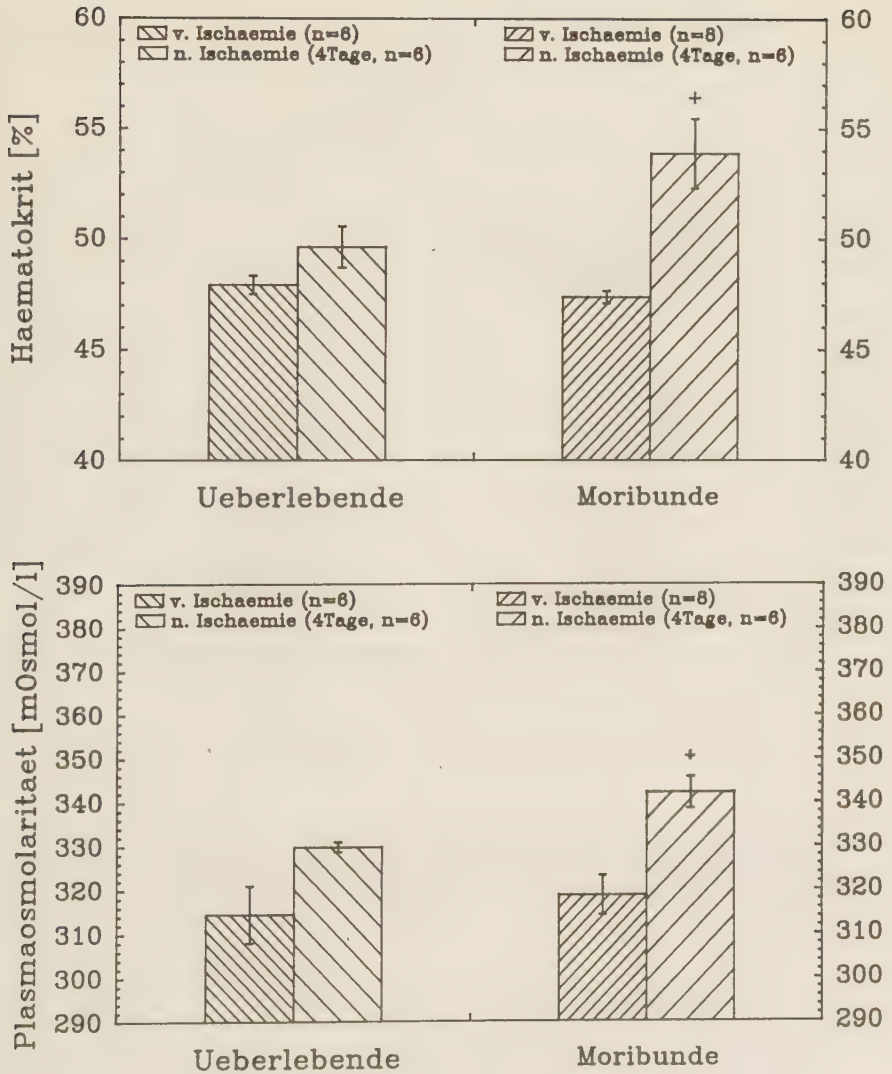


Abbildung 24 und 25:

Hämatokrit (oben) und Osmolarität (unten) von Gerbils mit Fütterung ad lib. vor und 4 Tage nach einer 15min Ischämie. Die Veränderungen sind für überlebende und moribunde Tiere getrennt dargestellt. Bei moribunden Tieren sind beide Parameter signifikant erhöht ($p < 0.05$).

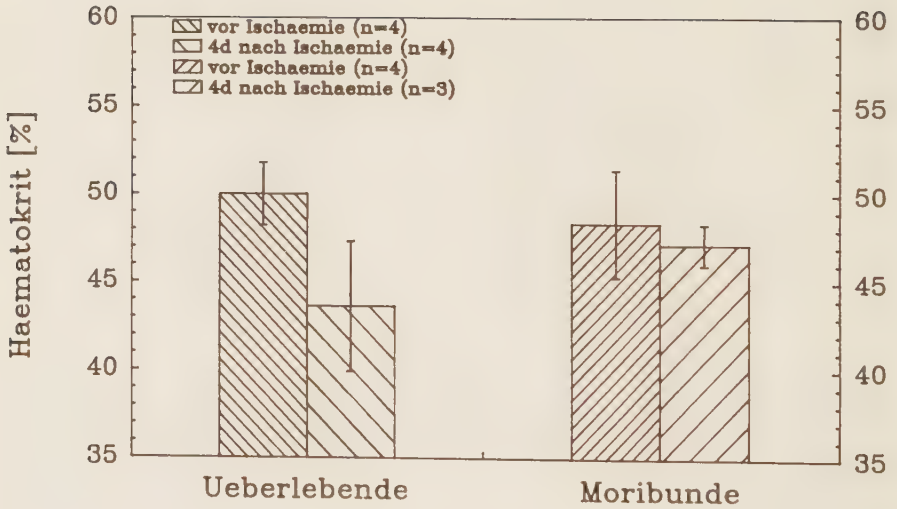


Abbildung 26:

Hämatokrit von Gerbils unmittelbar vor und 4 Tage nach Ischämie, die vor Ischämie 4 Tage lang ohne Futter und Wasser gehalten wurden. Die Werte sind für überlebende und moribunde Tiere getrennt dargestellt. Die Veränderungen sind nicht signifikant.

[a]

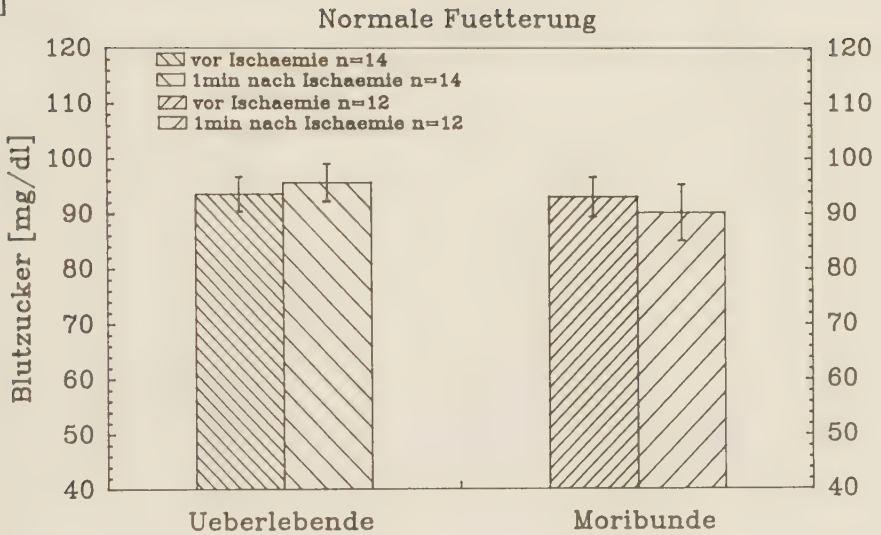
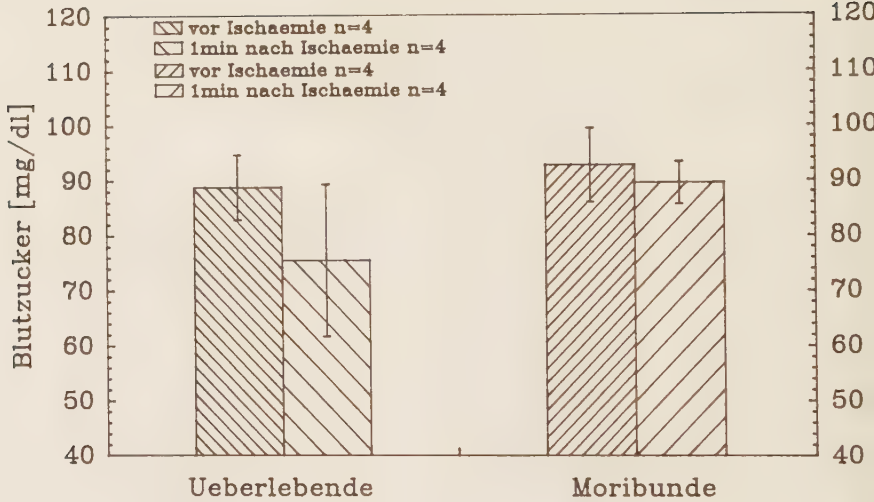


Abbildung 27a:

Blutzuckerspiegel von überlebenden (links) und moribunden Gerbils (rechts) bei freiem Zugang zu Futter und Wasser vor und 1min nach einer 15min Ischämie.

[b]

Fasten: 24h a.op.



[c]

Fasten: 4Tage a.op.

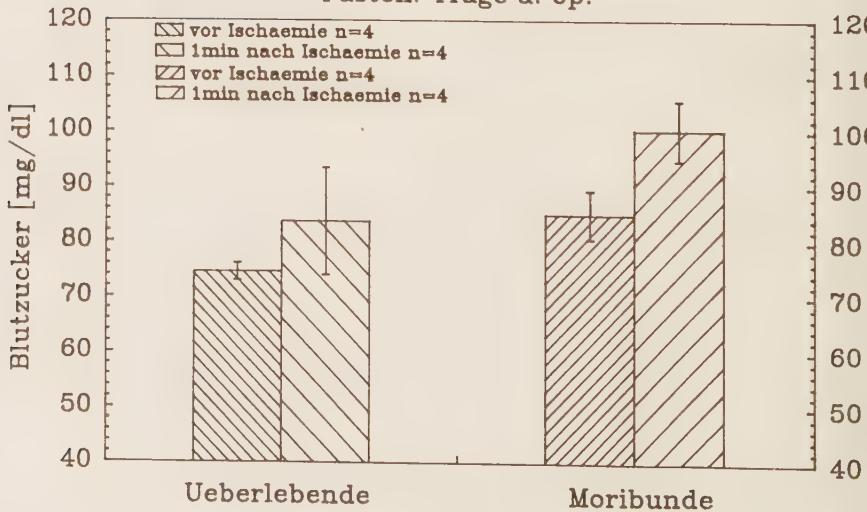


Abbildung 27b und c:

Blutzuckerspiegel von überlebenden (links) und moribunden Gerbils (rechts) bei Futter- und Wasserentzug 24h (oben) und 4Tage (unten) vor der Ischämie. Die Werte wurden unmittelbar vor der Ischämie und 1min nach der Ischämie bestimmt.

geringfügigen Blutdruckerhöhung begleitet. Nach Induktion der Ischämie kam es zu einem kurzen Druckabfall gefolgt von einem raschen Anstieg um ca 30-40mm Hg. Während der Ischämie konnte bei den meisten Tieren eine biphasische Druckkurve mit einem Tiefpunkt nach ca. 6-8min registriert werden. Unmittelbar nach Entfernung der Ligaturen fiel der arterielle Mitteldruck auf Werte, die 10-15mm Hg unter dem präischämischen Kontrollbefund lagen. Nach 45min war bei allen Tieren der mittlere arterielle Blutdruck auf das präischämische Ausgangsniveau zurückgegangen und blieb unter 1.5% Halothan-Luft-Narkose über eine 3-4-stündige Meßphase mit Druckschwankungen < 5mmHg konstant.

3.3 VERSUCHSGRUPPEN MIT AUSSCHLIEßLICHER LAUFKÄFIGHALTUNG

Ein grundlegendes Charakteristikum der Lebensäußerungen, die Mensch und Tier kennzeichnen, ist die physische Aktivität. Unter Haltungsbedingungen in menschlicher Obhut kommt der Ermöglichung des speziesspezifischen Bewegungsbedürfnisses eine zentrale Rolle zu. Darüber hinaus können Veränderungen der Spontanmotorik, wie sie z.B. bei zentralnervösen Erkrankungen, Stoffwechselerkrankungen, Traumen o.a. auftreten, Hinweise auf das Befinden und den Habitus eines Tieres geben. Zur Registrierung von Veränderungen des spontanen Antriebs nach einer vorübergehenden, zerebralen Ischämie wurden Gerbils vor und nach dem ischämischen Insult in Laufradkäfigen gehalten, die eine kontinuierliche Messung der Laufaktivität ermöglichten.

3.3.1. Überlebensrate und -zeit

Abb. 29 zeigt den Verlauf der Überlebensrate von Laufradtieren im Vergleich zu Tieren mit ausschließlicher Käfighaltung (vgl. 3.2.1). 2 von 14 Tieren starben im Zeitraum von 11-13 Tagen nach 15min Ischämie. Die Überlebensrate von 86% war gegenüber der der Käfigtiere (42%) signifikant erhöht ($p < 0.01$). Auf Grund der geringen Mortalität konnte der Einfluß der Anfallsneigung auf das Überleben bei Tieren in Laufkäfighaltung nach 15min Ischämie nicht untersucht werden.

Der ausgeprägte Schutz durch Haltung in Laufradkäfigen gegenüber den letalen Folgen einer vorübergehenden zerebralen Ischämie konnte durch die Befunde mit 20min Ischämie eindrucksvoll bestätigt werden. Während bei Tieren mit Krampfnеigung in konventioneller Käfighaltung eine Verlängerung der Ischämie um 5min zu einem signifikanten Anstieg der Mortalität von 45 auf 78% führte, betrug die Überlebensrate bei 9 Laufradtieren mit Anfallsneigung nach 20min Ischämie 100%. Sie unterschied sich nicht von der nach 15min. Die Laufkäfighaltung führte auch nach 20min Ischämie gegenüber der konventionellen Käfighaltung zu einer hochsignifikanten Verbesserung

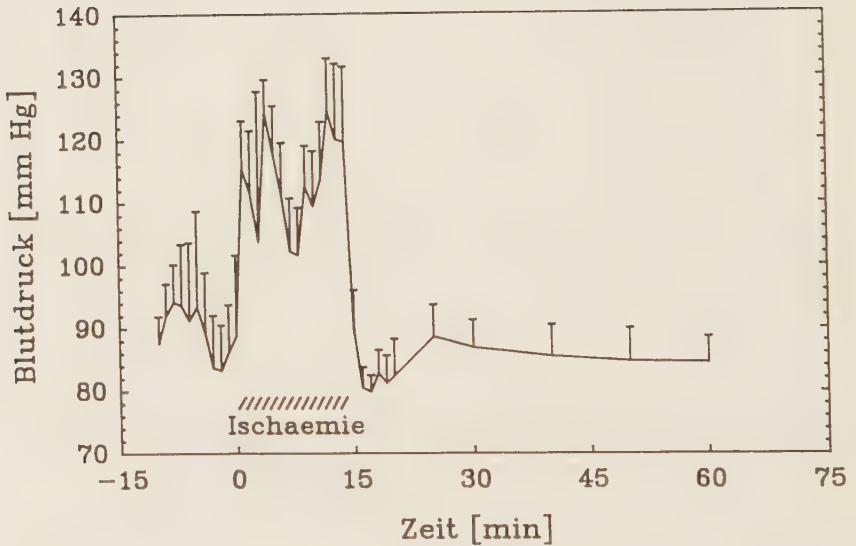


Abbildung 28:

Aus 6 Einzelversuchen gemittelter Verlauf des mittleren arteriellen Blutdrucks (MABP) von Gerbils während der präischämischen Präparationsphase (10min), der 15min Ischämie- und anschließenden Reperfusionsphase. Als Narkose wurde ein Halothan-Luftgemisch verwendet, wobei die Narkosegaskonzentrationen vor Ischämie 2.0%, während 0.5-0.75% und nach Ischämie 1.25-1.5% betrugen. 45min nach Öffnung der bilateralen Karotis-Okklusion war der Blutdruck auf ein stabiles Niveau zurückgekehrt und blieb während des gesamten postischämischen Beobachtungszeitraums (3-4h) konstant. In der Abbildung sind zur besseren Übersicht nur die ersten 45min nach Ischämie wiedergegeben.

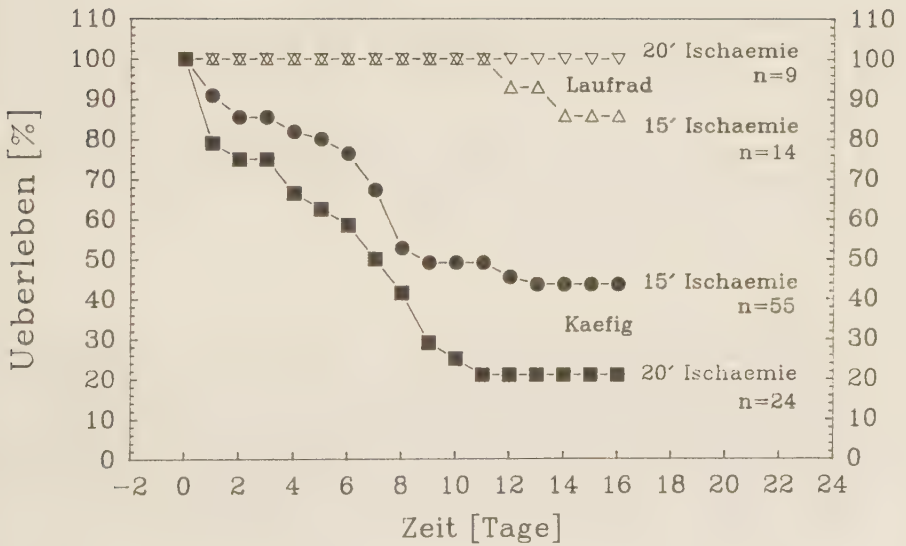


Abbildung 29:

Einfluß von körperlicher Aktivität auf die Überlebensraten von Gerbils nach 15 und 20min Ischämie in Laufradkäfig- und konventioneller Käfighaltung. Die Überlebensraten unterscheiden sich signifikant ($p < 0.01$) bezüglich der unterschiedlichen Haltungsformen, nicht aber bezüglich der Dauer der Ischämie.

der Überlebensrate ($p < 0.0001$).

3.3.2 Körpergewicht

3.3.2.1 15min Ischämie

Für den Wägevorgang war eine Entnahme der Tiere aus ihren Laufkäfigen notwendig. Um die dadurch hervorgerufene Störung der Spontanaktivität und der individuellen zirkadianen Rhythmik in den ersten Tagen nach dem ischämischen Insult zu minimieren, wurden die Messungen an nur 6 von 14 Tieren durchgeführt.

Abb. 30 zeigt den Verlauf der Gewichtsentwicklung von 6 Tieren der Laufkäfig-Gruppe im Vergleich zu 15 überlebenden und 17 moribunden Tieren der Käfig-Gruppe. Ein mittlerer relativer Gewichtsverlust von 10% des Kontrollgewichtes am 1.Tag nach der Ischämie stellt den Tiefpunkt der Verlaufskurve dar. Bereits am 5.Tag nach der Ischämie haben die Tiere im Durchschnitt ihr präischämisches Ausgangsgewicht wieder erreicht. Tendenziell normalisiert sich das Gewicht nach der Ischämie schneller als bei überlebenden Käfigtieren, der Unterschied ist statistisch jedoch nicht signifikant. Gegenüber moribunden Käfigtieren ist der Gewichtsverlauf ab dem 2. postischämischen Tag signifikant.

3.3.2.2 20min Ischämie

Der Gewichtsverlauf und -verlust der Laufradtire ($n=9$) entsprach dem der überlebenden Käfigtiere. Die Messungen wurden an allen Tieren durchgeführt, da sich bei der Datenauswertung der Tiere mit 15min Ischämie zeigte, daß der Meßvorgang keinen störenden Einfluß auf die Spontanaktivität hat. Der Gewichtsverlust war schon am ersten Tag nach der Ischämie signifikant geringer als bei moribunden Käfigtieren ($p < 0.01$). Das Signifikanzniveau betrug an allen anderen Tagen $p < 0.001$ (Abb.31).

3.3.3 Spontanaktivität im Laufrad

3.3.3.1 15min Ischämie

3.3.3.1.1 24h-Aktivität

Die 24h-Aktivität errechnet sich aus dem Produkt von mittlerer Laufradumdrehungszahl pro Meßintervall (4min) und der Anzahl von Meßintervallen innerhalb einer 24h-Periode (360). In der postischämischen Phase wurden in entsprechender Weise die absoluten Tagesleistungen ermittelt. Als durchschnittliche, präischämische Kontrollakti-

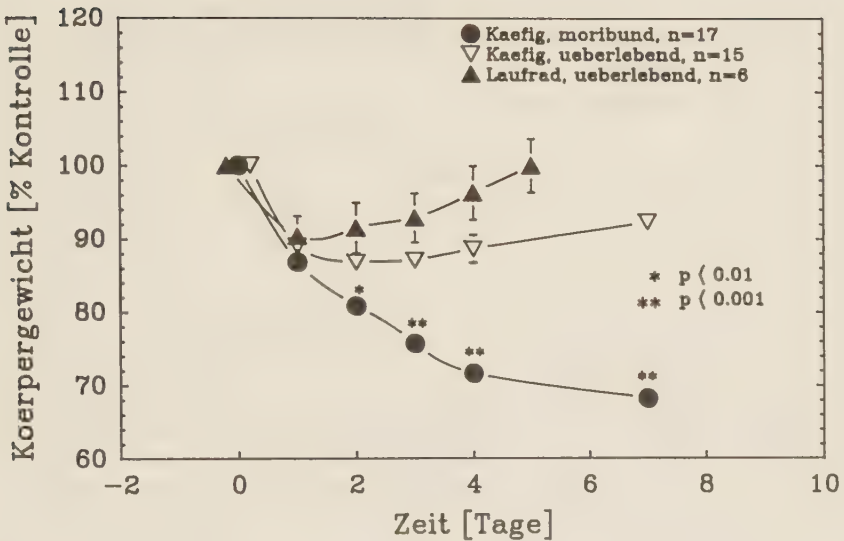


Abbildung 30:

Gewichtsverlauf in % des präischämischen Kontrollgewichts von Gerbils nach 15min Ischämie in Laufkäfig- und konventioneller Käfighaltung. Die Gewichtsbestimmung bei Laufradtieren wurde nur 5 Tage lang durchgeführt, da die Tiere im Durchschnitt ihr präischämisches Kontrollgewicht zu diesem Zeitpunkt wieder erreicht hatten. Laufradtiere unterscheiden sich statistisch nicht von überlebenden Tieren in Käfighaltung, aber der Gewichtsverlust ist ab dem 2. postischämischen Tag signifikant geringer als der von moribunden Käfigtieren.

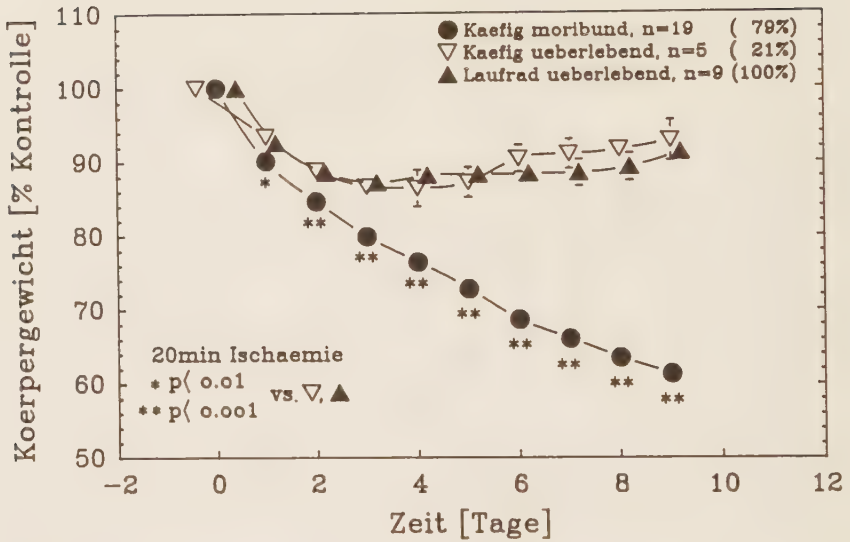


Abbildung 31:

Gewichtsverlauf in % des präischämischen Ausgangsgewichts von Gerbils nach 20min Ischämie in Käfig- oder Laufkäfighaltung. Tiere in Laufkäfigen und überlebende Tiere in Käfighaltung unterscheiden sich ab dem ersten Tag nach der Ischämie signifikant von moribunden Gerbils. Der Gewichtsverlauf überlebender Tiere in konventionellen und Laufkäfigen unterscheidet sich nicht.

viät wurde der Mittelwert der Laufaktivität der letzten 10 Tage der Kontrollphase bestimmt.

Zur Bestimmung der relativen Aktivitätsveränderungen nach der Ischämie wurden die postischämischen Laufwerte zur Kontrollaktivität ($=100\%$) in Beziehung gesetzt.

In den folgenden Abbildungen (Abb. 32a und b, 34, 35, 36, 39 und 40) gibt der Aktivitätswert am Tag 0 den über 10 Tage gemittelten Kontrollwert aller Tiere einer Gruppe wieder. Entlang der Abszisse sind die Versuchstage nach der Ischämie, auf der Ordinate die absoluten Laufleistungen einer Versuchsgruppe bzw. die prozentualen Veränderungen gegenüber dem Kontrollwert aufgetragen.

Die Abb. 32a und b zeigen den Effekt von 15min Ischämie auf die motorische Aktivität von Gerbils ($n=14$) im Vergleich zu schein-operierten Tieren ($n=6$).

In der Gruppe der ischämischen Tiere kam es bereits am 1.Tag nach der Okklusion zu einer relativen Steigerung der Laufaktivität. Am 3., 4. und 5.Tag war die mittlere Laufleistung um 300-450% signifikant gegenüber der präischämischen Kontrollaktivität erhöht ($p < 0.05$), bei einzelnen Tieren ließen sich Steigerungen bis zu 1400% registrieren.

Bei scheinoperierten Tieren war die Laufleistung im Vergleich zur präoperativen Aktivität 7 Tage lang signifikant vermindert ($p < 0.05$). Diese Aktivitätsdepression unterschied sich in den ersten 5 Tagen p. op. signifikant von den Veränderungen der Spontanaktivität der ischämischen Gruppe.

Während die Kontrollaktivitäten der schein-operierten Tiere nur geringe Unterschiede aufwiesen, war der mittlere Kontrollwert der Tiere mit Ischämie durch einen sehr hohen Standardfehler charakterisiert. Die beiden Laufleistungen waren voneinander signifikant verschieden.

Bei der genaueren Analyse der einzelnen Kontrollaktivitäten der ischämischen Tiere ($n=14$) zeigte sich, daß die Laufleistung von 4 Gerbils um ein Vielfaches über den Aktivitäten der meisten ischämischen ($n=10$) und scheinoperierten Gerbils ($n=6$) lag.

Es erschien deshalb sinnvoll, die Inhomogenität der ischämischen Gruppe genauer zu untersuchen.

Im linken Teil der Abb. 33 sind die mittleren Kontrollaktivitäten aller 20 Tiere in der präoperativen Phase einzeln auf der Ordinate abgetragen. Dabei lassen sich zwei unterschiedliche Leistungsgruppen unterscheiden (rechter Teil Abb. 33):

- 1) Die Laufaktivität der Mehrzahl der Tiere betrug zwischen 500 und 2000 Umdrehungen in 24h (Mittel: 855 ± 142 U).
- 2) 4 Tiere (= "hyperaktive Gruppe"), mit und ohne Anfallsneigung, leisten ein Vielfaches der Laufleistung der Restgruppe (Mittel: 8849 ± 2032 U).

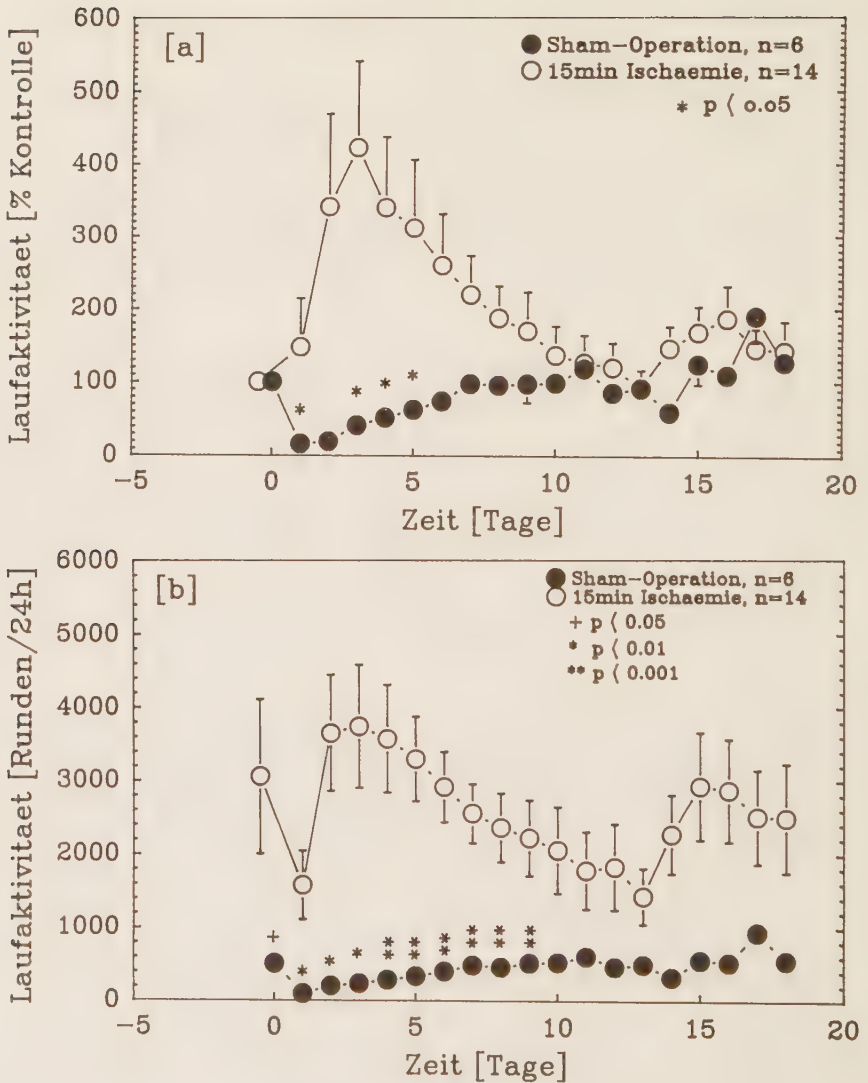


Abbildung 32a und b:

Laufaktivität von scheinoperierten und von Gerbils nach 15min Ischämie.

(a) Dargestellt ist die tägliche, relative Laufleistung nach der Ischämie bezogen auf einen präischämischen Kontrollwert (=100%). Dieser entspricht der mittleren Laufleistung aller Tiere einer Versuchsgruppe während der letzten 10 Tage vor der Ischämie.

(b) Absolute tägliche Laufaktivität in Laufradumdrehungen/24h. Der präischämische Ausgangswert am Tag 0 stellt die gemittelte Aktivität aller Tiere einer Versuchsgruppe während der letzten 10 Tage vor der Ischämie dar. Die Aktivitätswerte am 1. Tag nach der Ischämie stehen nur scheinbar im Widerspruch zu den relativen Werten in Abb. 32a. Der hohe Kontrollwert und die initiale Aktivitätsdepression sind durch das Verhalten von 4 Tieren mit erhöhter Kontrollaktivität bedingt (s.a. Abb. 33, 34 und 35: "hyperaktive Gruppe").

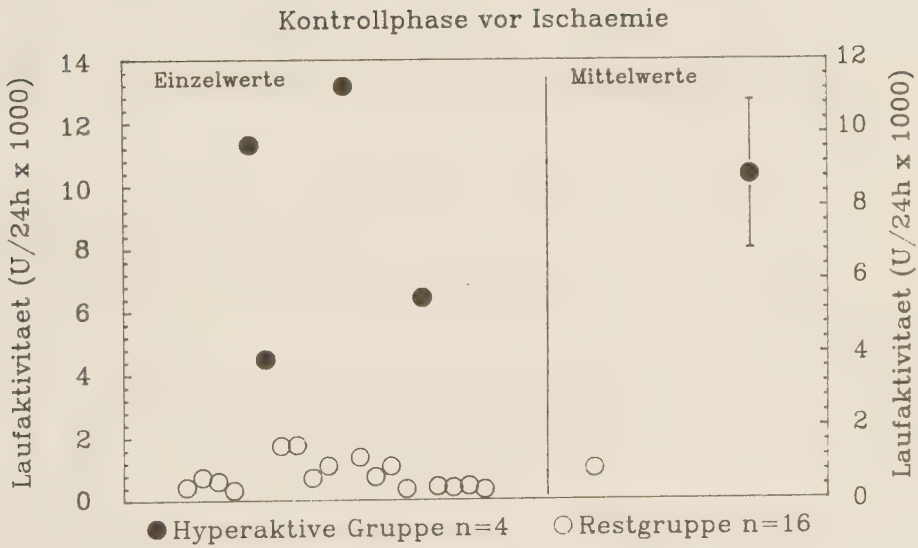


Abbildung 33:

Dargestellt sind die präischämischen Laufaktivitäten in Laufradumdrehungen/24h aller Tiere dieses Versuchsabschnitts (n=20), ermittelt aus den Laufwerten der letzten 10 Tage vor der Scheinoperation oder Ischämie. Im linken Bildteil sind die individuellen Einzelwerte, im rechten Teil die Mittelwerte der zwei unterschiedlichen "Leistungsgruppen" abgebildet.

Deshalb wurden diese beiden Gruppen entsprechend ihrer unterschiedlichen Spontanaktivität getrennt gewertet. Es zeigte sich, daß eine 15min Ischämie bei beiden Versuchsgruppen unterschiedliche Auswirkungen auf die Spontanaktivität hat:

Die Mehrzahl der Tiere mit niedrigerer Aktivität ($n=10$) zeigte eine signifikante Steigerung der Laufleistung um durchschnittlich 500% ($p < 0.05$) in den ersten 6 Tagen nach der Okklusion. Bei der "hyperaktiven" Gruppe ($n=4$) fiel die Laufaktivität initial um 90 % ab, die Laufaktivität blieb dann während des gesamten Versuchszeitraumes meist 50% unter der Kontrolleistung (Abb. 34).

In Abb. 35 sind die absoluten Laufleistungen dargestellt:

Die Kontrollaktivität der beiden Untergruppen unterschied sich hochsignifikant ($p < 0.01$). Während der gesamten postischämischen Phase waren die beiden Aktivitätskurven statistisch nicht verschieden, das heißt selbst bei einer 50-70%-igen Leistungsdepression entsprach die motorische Aktivität der hyperaktiven Untergruppe absolut dem Leistungsmaximum der Restgruppe.

3.3.3.1.2 Bedeutung der Anfallsneigung für die Spontanaktivität

Die präischämische Kontrollaktivität von Gerbils mit Krampfneigung ($n=8$) war größer als die von anfallsfreien Tieren ($n=6$). Dies ist durch die Tatsache bedingt, daß 3 der 4 "hyperaktiven" Tiere Gerbils mit Krampfneigung waren. Der Unterschied der beiden Werte ist jedoch statistisch nicht signifikant.

Die Veränderungen der Spontanaktivität nach der Ischämie unterscheiden sich nicht voneinander. Beide Gruppen zeigten synchrone Schwankungen der mittleren Tagesleistung im Verlauf der Versuchsdauer (Abb. 36).

3.3.3.1.3 Zirkadiane Rhythmik

Beobachtungen in freier Natur zeigen, daß Gerbils sowohl bei Tag als auch bei Nacht aktiv sind. Im Gegensatz zu vielen anderen Nagetieren, die Nachttiere sind, ist er ein Dämmerungstier (Allen 1940; UFAW 1972). Unter kontrollierten Lichtbedingungen eines 12h-Licht-Dunkelrhythmus entsprach die Dauer der Schlafphase annähernd der Wachphase, das Verhältnis Tag/Nachtschlaf betrug 1.17:1min. (Susic 1986).

Abb. 37 zeigt an einem Einzelbefund exemplarisch die Laufradaktivität eines Gerbils während eines 24h-Intervalls (Lichtphase 7-19 Uhr) am Tag vor Induktion der 15min Ischämie. Die einzelnen Aktivitätsspitzen sind über den gesamten Meßzeitraum verteilt, dabei läßt sich nur tendenziell eine größere Laufaktivität während des Lichtwechsels und der Dunkelphase gegenüber dem Lichttag feststellen. Die Schlaf- und Ruhepausen zwischen den Laufphasen betragen ca. 2-4 Stunden. Die Laufmaxima pro Meßintervall erreichen 120-150 U/4min.

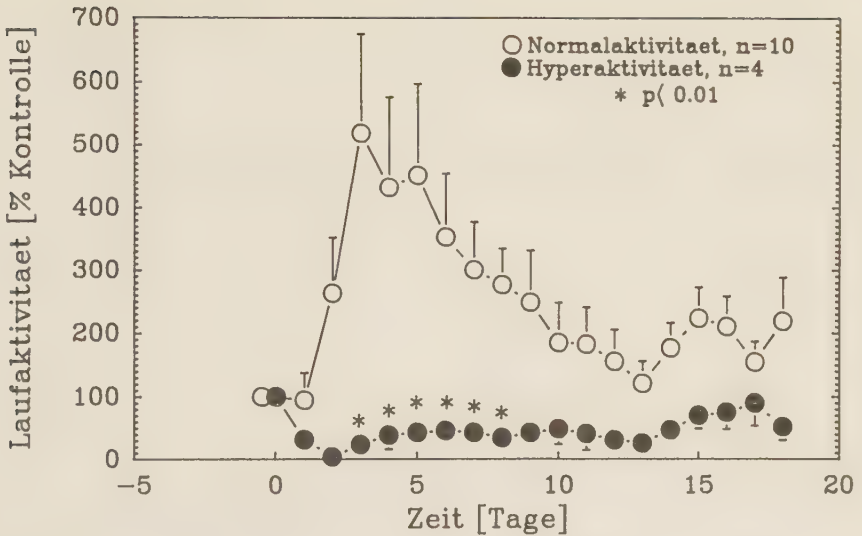


Abbildung 34:

Darstellung der relativen postischämischen Laufaktivität nach 15min Ischämie im Vergleich zur Kontrollaktivität von Gerbils mit "normaler" präischämischer Laufaktivität und mit "Hyperaktivität" (vgl. Abb. 33, rechter Bildteil).

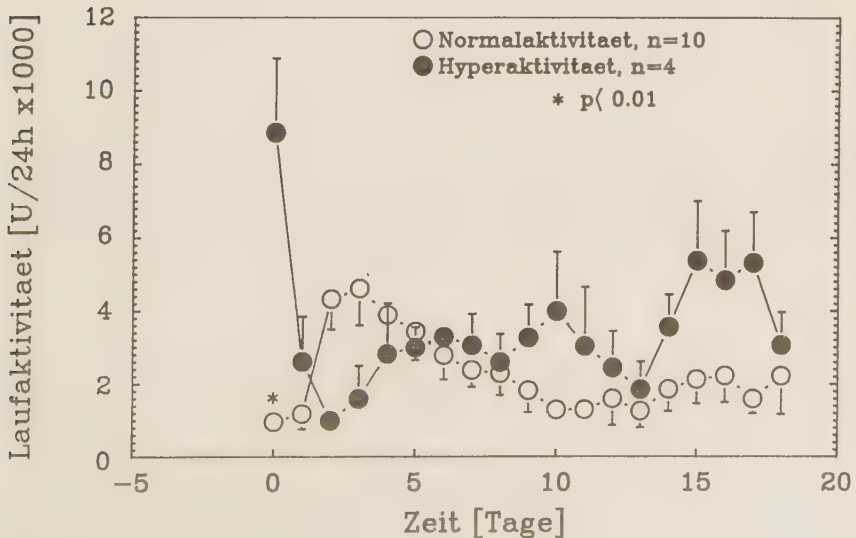


Abbildung 35:

Vergleichende Darstellung des Verlaufs der postischämischen, motorischen Aktivität (Laufradumdrehungen/24h) von Gerbils mit "normaler" und erhöhter Kontrollaktivität (vgl. Abb. 33, linker Bildteil).

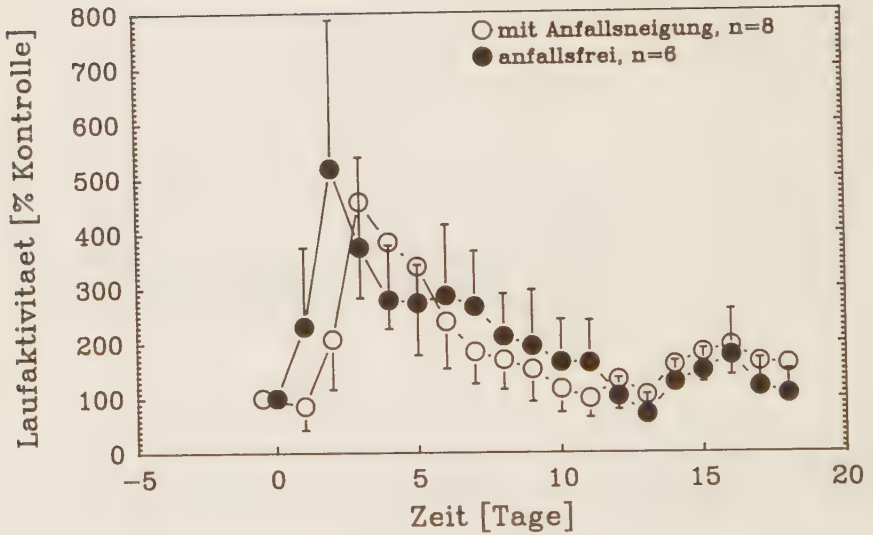


Abbildung 36:

Vergleichende Darstellung der relativen, postischämisch gesteigerten Laufaktivität von anfallsfreien (S-) und anfallsdispositionierten (S+) Gerbils nach 15min Ischämie. Die absoluten, präischämischen Kontrollaktivitäten (Radumdrehungen/24h) der beiden Versuchsgruppen sind statistisch voneinander nicht verschieden.

Abb. 38 zeigt das 24h-Meßprotokoll am 4.Tag nach der Ischämie. Das Verhältnis Laufphase/ Ruhephase ist deutlich zugunsten der Laufaktivität verschoben. Die maximale Umdrehungsfrequenz der Lauftrommel pro Meßintervall als Ausdruck der Laufgeschwindigkeit ist dabei gegenüber der präischämischen Aktivität nicht signifikant erhöht. Neben einer zeitlichen Ausdehnung der einzelnen Laufperioden kommt es zu einer Häufung der Aktivitätsphasen während eines 24h-Tages.

Tiere der oben beschriebenen "hyperaktiven Gruppe" zeigten bereits vor der Ischämie ein entsprechendes Laufverhalten. Darüber hinaus erreichten diese Tiere eine größere Laufgeschwindigkeit mit Werten bis zu 180 U/4min.

3.3.3.2. 20min Ischämie

In dieser Versuchsgruppe (n=9) lag die mittlere Kontrollaktivität bei 880 U/24h und entsprach damit den präischämischen Laufwerten der Gruppe mit 15min Ischämie (Abb. 39). In den ersten 4 Tagen nach der Ischämie kam es zu einer absoluten und relativen Steigerung der Laufaktivität, die am 1. und 4. Tag mit Werten um 400% gegenüber dem Kontrollwert signifikant erhöht war ($p < 0.05$) (Abb 40).

3.4. ALTERNIERENDE HALTUNGSFORMEN (15MIN ISCHÄMIE)

Die Ergebnisse zeigen, daß die Laufradaktivität einen äußerst effektiven Schutz gegen die tödlichen Folgeerscheinungen einer zerebralen Ischämie bei Gerbils darstellt. Durch die Versuchsanordnung bedingt blieb jedoch die Frage offen, ob Laufaktivität vor dem ischämischen Insult für die Protektion verantwortlich ist, oder ob die Möglichkeit zum Laufen nach der Ischämie einen therapeutischen Effekt besitzt. Deshalb wurden in einem weiteren Versuchsabschnitt neben einer Gruppe von Tieren, die ausschließlich in konventionellen Käfigen gehalten wurde, 2 Gruppen untersucht, die nur vor oder nur nach der Ischämie in Laufradkäfigen gehalten wurden.

3.4.1 Haltung in Laufradkäfigen vor der Ischämie (L/K-Gruppe)

Die Tiere wurden 2 Wochen lang bis zur Operation in Laufradkäfigen und für den postischämischen Versuchszeitraum in normalen Käfigen gehalten (n=11, davon 2 mit Anfallsneigung).

3.4.2 Haltung in Laufradkäfigen nach der Ischämie (K/L)-Gruppe)

Die zuvor in Einzelkäfigen gehaltenen Tiere wurden unmittelbar nach der Operation in Laufradkäfige gesetzt, und die Aktivitätsmessung wurde sofort begonnen (n=12,

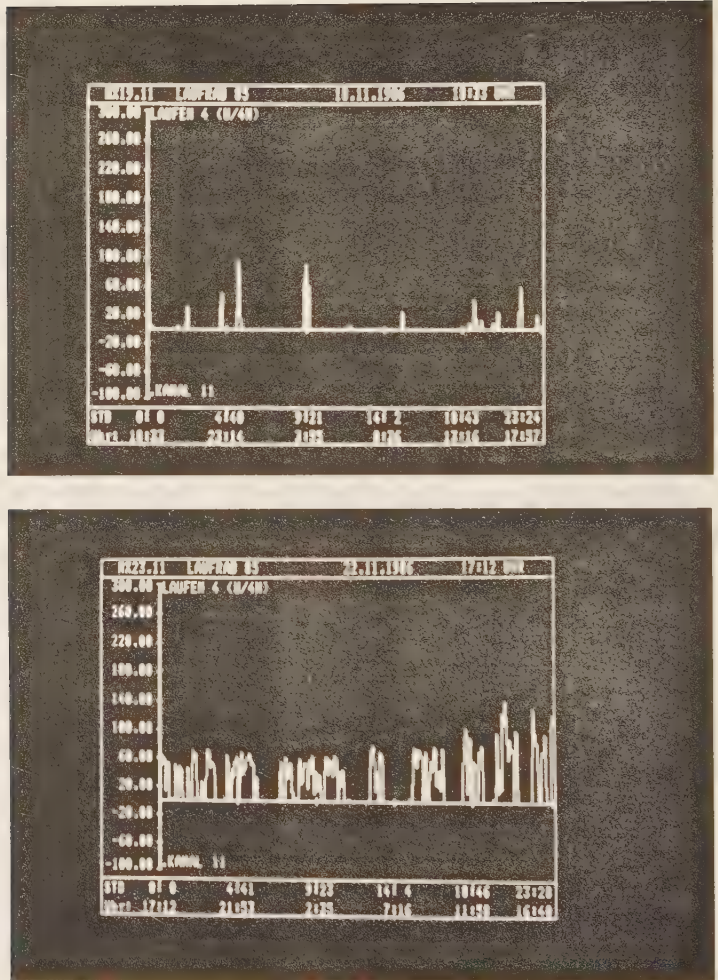


Abbildung 37 und 38:

Tagesprofil der Laufaktivität eines Gerbils 2 Tage vor (Abb. 37, oben) und 2 Tage nach einer 15min Ischämie (Abb. 38, unten). Die Laufradumdrehungen während eines künstlichgesteuerten Tag/Nachtzyklus (Lichtphase 7-19 Uhr) werden in 360 Einzelintervallen à 4min registriert. Deutlich sichtbar sind v.a. in der präischämischen Kontroll-Laufphase die Aktivitätsmaxima zur Zeit des Lichtwechsels. Nach der Ischämie kommt es während der hyperaktiven Phase zu einer deutlichen Verschiebung des Ruhe/Aktivitätsverhältnisses.

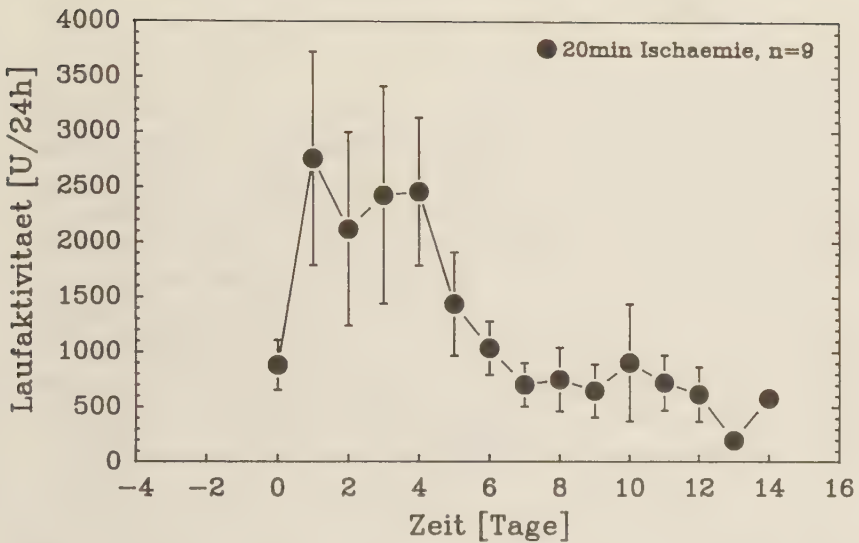


Abbildung 39:

Laufaktivität (Laufradumdrehungen/24h) von Gerbils nach 20min Ischämie. Der präischämische Kontrollwert am Tag 0 stellt die mittlere Tagesaktivität aller Tiere während der letzten 10 Tage vor Induktion der Ischämie dar.

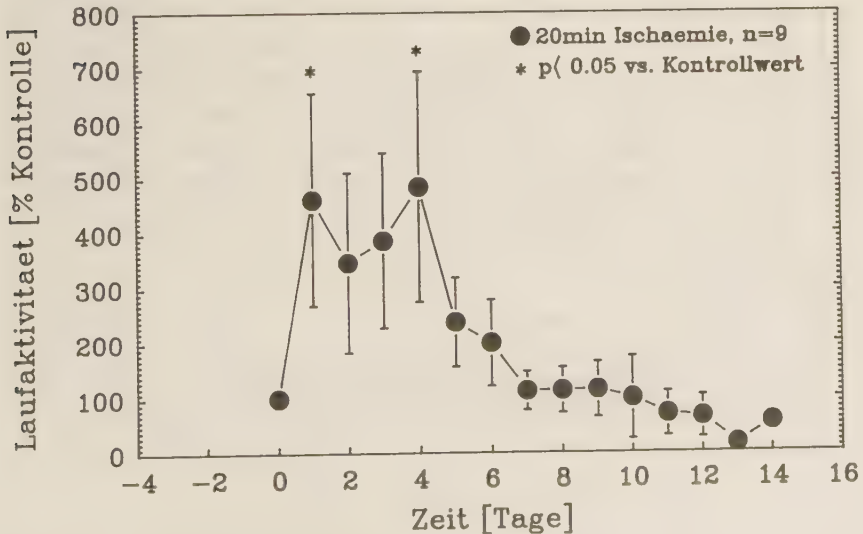


Abbildung 40:

Relative Aktivitätsveränderungen der in Abb. 39 dargestellten Laufleistungen von Gerbils nach 20min Ischämie bezogen auf die präischämische Kontrollaktivität.

davon 9 mit Anfallsneigung).

3.4.3 Überlebensrate

Abb. 41 zeigt den Mortalitätsverlauf und die Überlebensraten der beiden Gruppen im Vergleich zu Tieren in reiner Käfig- oder Laufkäfighaltung. Sowohl Tiere mit ausschließlich präischämischer, als auch Tiere mit postischämischer Laufaktivität hatten mit 91% bzw. 83% signifikant bessere Überlebensraten als Gerbils, die während des gesamten Versuchszeitraumes in normalen Käfigen gehalten wurden. Sie unterschieden sich jedoch nicht von Tieren mit ausschließlicher Laufkäfighaltung. Im Unterschied zur letztgenannten Gruppe glich der Mortalitätsverlauf der beiden Versuchsgruppen mit teilweiser Laufkäfighaltung dem von Tieren in dauernder Käfighaltung. In diesen Versuchsgruppen starben die meisten Tiere zwischen dem 5. bis 9. Tag nach dem Insult, während moribunde Tiere in ganzzzeitiger Laufkäfighaltung erst viel später, d.h. zwischen dem 12. und 14. Tag nach Ischämie, starben.

3.4.4 Körpergewicht

Der Einfluß der motorischen Aktivität auf die postischämische Gewichtsentwicklung bei alternierender Haltung ist in Abb. 42 dargestellt.

Der initiale Gewichtsverlust am 1. Tag nach der Ischämie ist bei allen überlebenden Tieren gleich. Während die Gewichtsentwicklung bei den Tieren der K/L-Gruppe in den folgenden 2 Tagen noch eine negative Tendenz hat, zeigen die Tiere mit ganzzzeitiger bzw. präischämischer Laufmöglichkeit im Mittel bereits Gewichtszunahmen. Diese Unterschiede sind jedoch bis zum 4. Tag nach der Ischämie nicht signifikant. Am 5. Tag ist der mittlere Gewichtsverlust der Tiere mit postischämischer Laufkäfighaltung signifikant größer als der von reinen Lauftieren und ab dem 6. Tag ebenfalls signifikant gegenüber den Tieren der L/K-Gruppe ($p < 0.05$).

3.4.5 Laborparameter

3.4.5.1 Blutzucker (mean $\pm$ sem) in mg/dl

	präischämische n = 5	postischämische Laufgruppe n = 12
vor Ischämie	93 $\pm$ 2.7	89 $\pm$ 3.2
1min nach Ischämie	80 $\pm$ 7.6	72 $\pm$ 2.9

Es bestehen keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Werten.

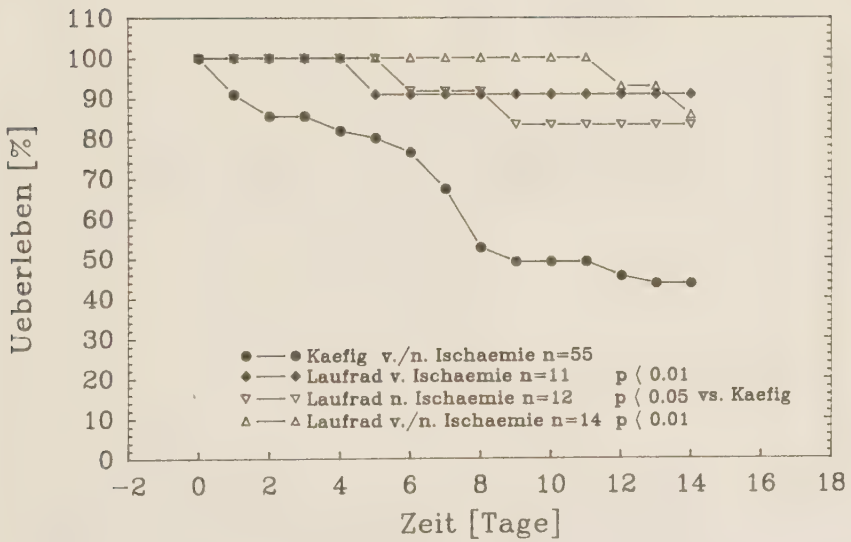


Abbildung 41:

Vergleichende Darstellung der Überlebensraten von Gerbils unter verschiedenen Haltungsbedingungen nach 15min Ischämie. Alle Tiere, die entweder nur nach der Ischämie, nur während der präischämischen Versuchsphase oder vor und nach der Ischämie in Laufradkäfigen gehalten wurden, hatten signifikant bessere Überlebensraten als Tiere in dauernder Käfighaltung.

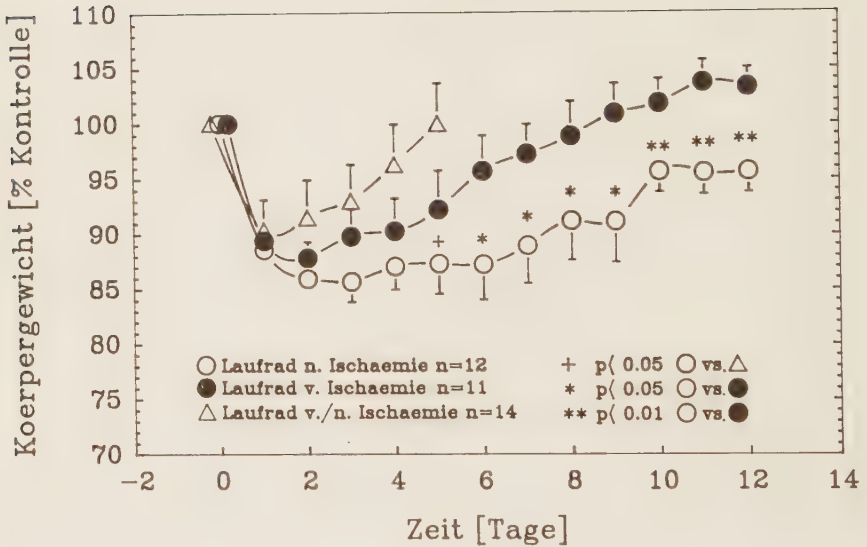


Abbildung 42:

Vergleichende Darstellung der postischämischen Gewichtsentwicklung von Gerbils unter verschiedenen Haltungsbedingungen nach 15min Ischämie. Am 5.Tag war der relative Körpergewichtsverlust von Tieren mit postischämischer Laufkäfighaltung signifikant größer als bei der Gruppe mit permanenter Laufkäfighaltung. Ab dem 6.Tag unterschied sich der Gewichtsverlust auch gegenüber dem von Tieren, die nur vor der Ischämie in Laufkäfigen gehalten wurden.

3.4.6 Spontanaktivität im Laufrad

3.4.6.1 Laufaktivität vor der Ischämie (L/K-Gruppe)

Die mittlere Tagesaktivität während eines 14-tägigen Meßzeitraumes betrug 2465 ± 882 U/24h. Wie schon in der Versuchspopulation mit ganzzzeitiger Laufkäfighaltung (s. 3.3.3.1.1 und Abb. 33) fielen auch in dieser Gruppe 3 Tiere mit einer extrem hohen motorischen Aktivität vor der Ischämie auf. Mit 6435 ± 1829 U/24h war die Laufleistung dieser Gerbils sehr viel größer als die Aktivität der Restgruppe mit 977 ± 117 U/24h.

3.4.6.2 Laufaktivität nach der Ischämie (K/L-Gruppe)

Das Profil der einzelnen Tagesmittel ist in Abb. 43 dargestellt. Bereits am 1. Tag nach der Ischämie wurden mit Ausnahme von einem Tier Laufaktivitäten registriert. Innerhalb von 2 Tagen erreichten die Tiere Umdrehungszahlen, die über dem mittleren präischämischen Kontrollwert der meisten Gerbils (exkl. "hyperaktive" Gruppe) mit 800-1000 U/24h lagen. Vergleicht man jedoch die postischämische absolute Laufaktivität der Tiere dieser Gruppe mit der von Tieren in dauernder Laufkäfighaltung (s. 3.3.3.1.1 und Abb. 32b), so ergeben sich folgende Unterschiede:

- 1) Während die motorische Aktivität von Tieren in ganzzzeitiger Laufkäfighaltung nach einem Maximum am 3.-5. Tag auf das Kontrollniveau zurücksank, blieb die Laufleistung der Tiere mit postischämischer Laufkäfighaltung auf einem Aktivitätsniveau, das am 3. Tag nach der Ischämie erreicht war.
- 2) Das mittlere Aktivitätsmaximum der Tiere mit nur postischämischer Laufkäfighaltung war mit ca 2000 U/24h nur halb so groß wie das der Gerbils in dauernder Laufkäfighaltung.

3.5 Nageaktivität

Das Zernagen von Holz, Pappe, Stoffresten und ähnlichen Materialien ist ein charakteristisches Verhaltensmuster, das den Aktivitäten des Nestbaus zugerechnet werden kann (Glickman 1976).

3.5.1 Vor der Ischämie

Die Tiere begannen sofort nach Gabe von Pappestückchen diese zu benagen. Innerhalb von 24h waren die Quadrate (7 x 7cm) bis auf kleine Reste vollständig zernagt.

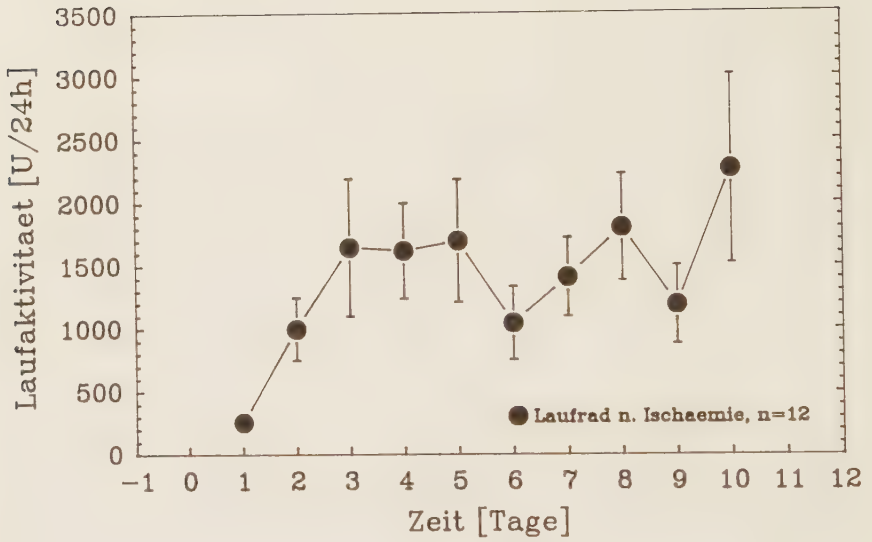


Abbildung 43:

Mittlere Laufaktivität (Radumdrehungen/24h) von Gerbils nach 15min Ischämie. Die Tiere wurden vor der Ischämie in normalen Einzelkäfigen gehalten und unmittelbar nach der Operation in Laufradkäfige gesetzt.

Alle Versuchstiere bekamen vor der Ischämie 14 Tage lang täglich ein Pappquadrat.

3.5.2 Nach der Ischämie

Abb. 44 zeigt den durchschnittlichen Beginn der Nageaktivität nach 15min Ischämie bei den einzelnen Versuchsgruppen. Gewertet wurde jeweils der Tag, an dem erste Nagespuren am Karton sichtbar waren. Insgesamt stand der Beginn der Nageaktivität direkt mit der Intensität der physischen Aktivität in Beziehung. Die Gruppe mit ausschließlicher Käfighaltung unterschied sich sowohl signifikant von den scheinoperierten Tieren, als auch von den Gruppen mit präischämischer und dauernder Laufkähg-haltung. Tiere der letzten beiden Gruppen zeigen gegenüber den nicht-ischämischen Gerbils einen ebenfalls verzögerten Aktivitätsbeginn, der jedoch statistisch nicht signifikant ist.

3.6 HISTOLOGISCHE AUSWERTUNG

Für eine quantitative, histologische Auswertung von Veränderungen im Hippocampus war es notwendig, bei den verschiedenen Tieren Gewebsareale mit identischer anatomischer Lokalisation und gleicher Größe zu untersuchen. Es wurden deshalb nur diejenigen Serienschnitte verwendet, die 1.6-17mm caudal des Bregmas lagen. Innerhalb der Hippocampusformation wurden 3 Abschnitte aus den Sektoren 1-4 des Cornu ammonis ausgewählt (s. Abb. 5). Vor der Auswertung von Präparaten ischämischer Tiere war es zunächst notwendig, die verwendete Methode zur Bestimmung der Anteile von parenchymalen und mesenchymalen Gewebsbestandteilen innerhalb einer definierten Fläche auf ihre Reproduzierbarkeit hin zu prüfen.

3.6.1 Auswertung der histologischen Präparate von scheinoperierten Gerbils

3.6.1.1 Bestimmung der Nervenzellzahl von Kontrolltieren

3.6.1.2 Validierung der Zellzählmethode

Zur Abschätzung des relativen Anteils gezählter Neuronen mit Hilfe des beschriebenen Gitters und zur Beurteilung der Reproduzierbarkeit der Einzelergebnisse wurden alle 3 auszuwertenden Abschnitte aus den Sektoren des Hippocampus von scheinoperierten Tieren (n=7) sowohl absolut, d.h. innerhalb der vom Gitter umschlossenen Fläche, als auch relativ mit Hilfe der 104 Kreuzungspunkte ausgezählt.

Abb. 45 zeigt für alle Sektoren die mittlere absolute und relative Nervenzellzahl

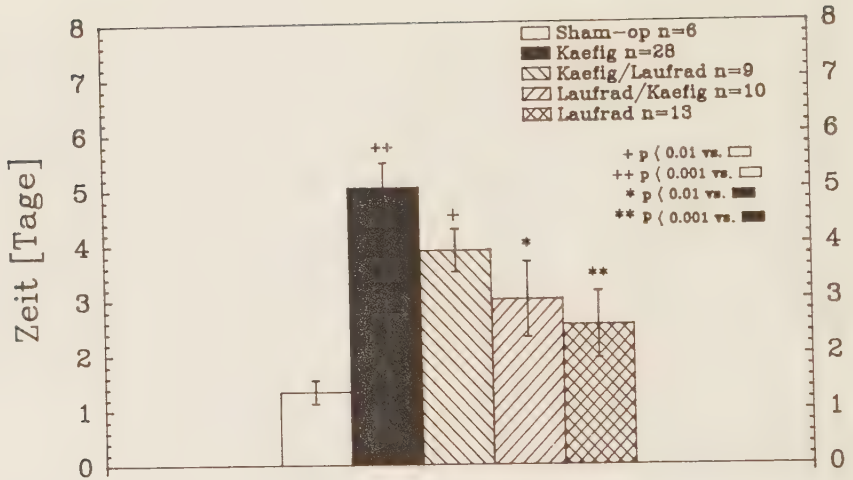


Abbildung 44:

Darstellung der Zeitspanne bis zum Wiederbeginn der Nageaktivität nach einer Scheinoperation bzw. 15min Ischämie. Alle Tiere erhielten vor der Operation 14 Tage lang quadratische Pappestücke, die innerhalb von 12h vollständig zernagt wurden. Die Versuchsgruppen mit unterschiedlicher Haltungsform sind getrennt dargestellt.

nebeneinander aufgetragen. Das Verhältnis relative/ absolute Zellzählung in den einzelnen Sektoren spiegelt die unterschiedliche Größe der einzelnen Nervenzellen wider.

- CA1: Neurone in diesem Sektor stellen sich lichtmikroskopisch relativ klein dar. So umschließt ein Quadrat des Gitters im Bereich des Neuronenbandes mehrere Neurone, die keinen der 4 Gitterpunkte berühren. Der prozentuale Teil des somit erfassten relativen Anteils ist gegenüber der absoluten Zählung relativ klein: 45% (entspricht 38 ± 2.5 gezählter Zellen).
- CA3: Trotz einer absolut geringeren Anzahl von Nervenzellen bei entsprechender räumlicher Anordnung ist der Prozentsatz der durch relative Zählung erfassten Neurone wegen der größeren Fläche der Einzelzelle gegenüber dem CA1-Sektor erhöht: 60% (entspricht 60 ± 2.4 Neuronen).
- CA2/3: Neben der Größe der Neurone ist die bogenförmige Anordnung des Zellverbandes für den hohen Prozentsatz an Zellen, die mit der Auszählung der Gitterpunkte bestimmt werden, gegenüber der absoluten Nervenzelldichte verantwortlich: 68% (entspricht 35 ± 2.2 Neurone /104 Gitterpunkte).

Für das gesamte Präparat ergibt sich aus den Einzelzählungen ein mit Hilfe der Gitterzählmethode erfaßter relativer Anteil von 58% der absoluten Nervenzelldichte in den 3 ausgezählten Sektoren des Hippocampus.

Werden beide Werte der Einzelzählungen für alle Sektoren gegeneinander aufgetragen, ergeben sich folgende Korrelationen für die Anwendung der relativen Zellzählung: Für die ausgewerteten Flächen aus den Sektoren CA1 und CA3 beträgt der Korrelationskoeffizient zwischen absoluter und relativer Zellzahlbestimmung $r=0.91$, für den CA2/3 Abschnitt $r=0.94$. Die Korrelationen sind signifikant ($p<0.05$) (Abb.46).

3.6.1.3 Kapillaren und Glia

1) Kapillaren

Pro Bild wurden in den Kontrollpräparaten ($n=7$) in allen 3 Abschnitten der ausgewerteten Sektoren 4-8 Gefäßanschnitte gezählt. Lagen mehrere Netzknoten im Lumen eines einzigen Gefäßes, wurden alle einzeln gewertet. Der oben genannte Wert gibt somit nicht in jedem Fall die Anzahl einzelner Gefäße, sondern den Flächenanteil von Gefäßlumina im Präparat wieder.

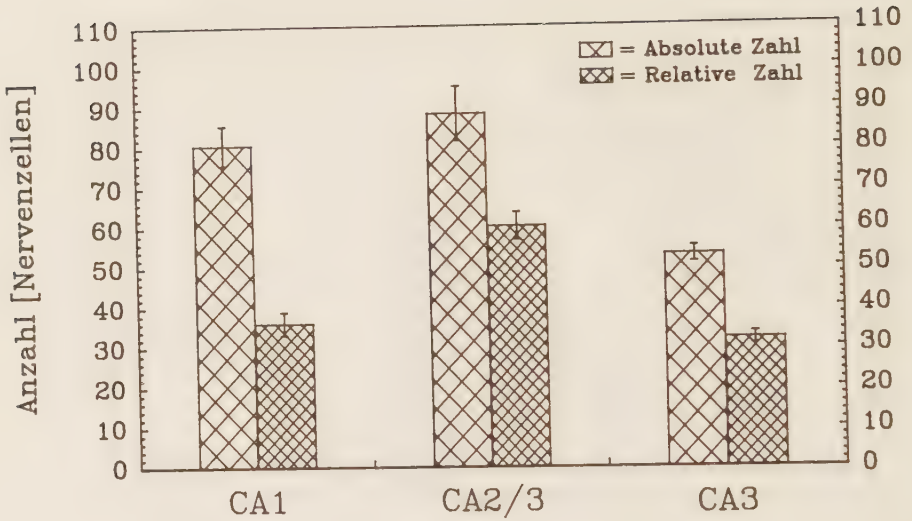


Abbildung 45:

Vergleichende Darstellung der absoluten und relativen Nervenzellzahlen von selektiven Ausschnitten der Hippocampussektoren CA1-3 in histologischen Präparaten scheinoperierter Kontrolltiere ($n=7$). Für die Bestimmung der absoluten Zellzahl wurden alle Neuronen ausgezählt, die auf dem digitalisierten Bildausschnitt innerhalb der vom Gitter umschlossenen Fläche lagen. Die relative Neuronenzahl stellt denjenigen Anteil aller Nervenzellen innerhalb der vom Gitter umschlossenen Fläche dar, die auf den 104 Kreuzungspunkten des Gitters zu liegen kamen.

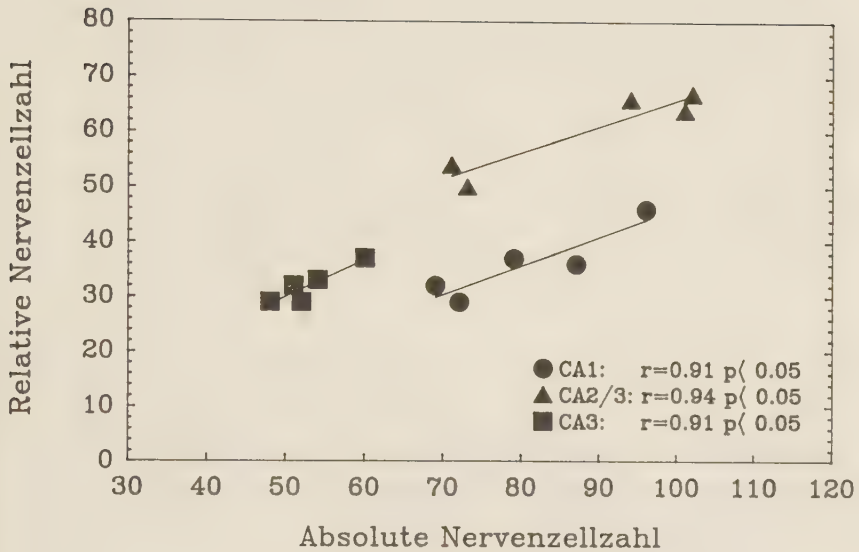


Abbildung 46:

Korrelation zwischen den in Abb. 45 dargestellten Ergebnissen der absoluten und relativen Nervenzzahlbestimmung.

Relative Zählung: CA1: 7.3 ± 0.9 ; CA3: 5.6 ± 0.7 ; CA2/3: 3.4 ± 0.8 ;

Alle Präparate von Tieren mit Ischämie zeigten unabhängig von Ischämiedauer und Untersuchungszeitpunkt (4 Tage, 14 Tage, 10 Wochen nach der Ischämie) keine Veränderungen gegenüber Kontrolltieren bzw. eine nur leichte, statistisch nicht signifikante Erhöhung der Gefäßdichte.

Tabelle 5:

	CA1	CA3	CA2/3
4 Tage (n=18)	7.0 ± 0.6	7.0 ± 0.6	6.9 ± 0.9
14 Tage (n=23)	8.2 ± 0.9	7.2 ± 1.0	7.3 ± 0.8
10 Wochen (n=8)	5.3 ± 0.8	6.8 ± 1.6	6.4 ± 1.8

2) Glia

Die Anzahl der gewerteten Gliazellen betrug bei den nicht-ischämischen Tieren im Mittel zwischen 3 und 5 Zellen pro Bildausschnitt. Bedingt durch die relativ geringe Größe der lichtmikroskopisch erfaßbaren Kernstruktur dieser im Begriff Glia zusammengefaßten Zellgruppe wurden mit dem verhältnismäßig großen Gitternetz nur ein geringer Prozentsatz der absoluten Zellzahl erfaßt.

Relative Zellzählung: CA1: 3.4 ± 0.5 ; CA3: 5.6 ± 1.0 ; CA2/3: 4.3 ± 0.9 ;

Bei ischämischen Tieren kam es nach dem Insult zu einer Vermehrung der Zellen, die unter dem Begriff Glia zusammengefaßt sind. Dies war bei allen Versuchsgruppen, d.h. mit und ohne Laufkäfighaltung, und zu allen Untersuchungszeitpunkten nach der Ischämie zu beobachten. Die höchste Zellzahl wurde bei den Versuchstieren gefunden, die 14 Tage nach der Ischämie untersucht wurden.

Tabelle 6:

	CA1	CA3	CA2/3
4 Tage (n=18)	7.7 ± 0.7	8.4 ± 0.5	8.2 ± 0.7
14 Tage (n=23)	15.1 ± 3.0	10.2 ± 1.2	10.2 ± 1.6
10 Wochen (n=8)	8.9 ± 1.3	9.9 ± 1.0	8.5 ± 0.5

3.6.1.4 Neuropil

Das Neuropil stellt sich im lichtmikroskopischen Bild als sehr strukturarmer Bereich zwischen den Zellsoma und den Gefäßlumina dar.

Bei nicht-ischämischen Tieren waren in den beiden Sektoren CA1 und CA3 mit gerade verlaufendem Neuronenband ca 50 % aller Gitterpunkte dem Neuropil zuzuordnen. Durch die bogenförmige Anordnung der Neuronen im Sektor CA2/3 wurde

der Anteil auf ungefähr ein Drittel aller Bildpunkte reduziert. Im Mittel wurden pro ausgezählter Hippocampushälfte von insgesamt 312 Gitterpunkten 148 ± 3.1 (mean $\pm$ sem) als Neuropil gewertet.

Der Anteil des lichtmikroskopisch strukturlosen Neuropils war mit der Neuronendichte negativ korreliert. Bei den Versuchsgruppen mit Ischämie nahm sein Anteil in dem Maße zu, in dem sich die Anzahl gezählter Neurone verminderte.

Wegen der gezeigten gleichförmigen Veränderungen von Kapillaren, Glia und Neuropil bei allen ischämischen Versuchsgruppen wurde bei der weiteren Darstellung der histologischen Befunde auf eine gesonderte Darstellung dieser Anteile verzichtet.

3.6.2 Bestimmung der Nervenzellzahl im Hippocampus ischämischer Tiere

3.6.2.1 15min Ischämie

Es war nicht möglich, histologische Hirnpräparate von allen im Versuch verwendeten Tieren zu erhalten. Zu Beginn der Untersuchungen wurden während des gesamten Versuchszeitraums Gewichtsbestimmungen von allen Tieren durchgeführt, um daraus einerseits die Bedeutung einer kritischen Gewichtsgrenze als Todesursache und andererseits den Gewichtsverlust als sicheren und frühzeitigen prognostischen Parameter für das Überleben der Tiere ableiten zu können. In späteren Untersuchungen wurden moribunde Tiere mit einem Gewichtsverlust von mehr als 35% des Kontrollgewichts und schlechtem Allgemeinbefinden vor Eintritt des Todes perfusionsfixiert. Viele der moribunden Gerbils verstarben nachts, so daß die Hirne nicht fixiert und untersucht werden konnten.

Überlebende Tiere mit und ohne Laufkäfighaltung aus Versuchen zu Beginn der Arbeit wurden nach 10 Wochen perfusionsfixiert, um die histologischen Veränderungen in einer sehr späten postischämischen Phase, in der bereits reparative Vorgänge auftreten, studieren zu können.

Da sich die postischämische Körpergewichtsentwicklung als ein sehr sicherer prognostischer Parameter für das Überleben erwies, wurden in folgenden Versuchen, sofern möglich, Tiere mit Gewichtsverlusten $> 35\%$ des Ursprungsgewichtes vor Eintritt des Todes als moribund gewertet und perfusionsfixiert. Die überlebenden Tiere (Käfighaltung) wurden nach 14 Tagen einer histologischen Aufbereitung zugeführt.

Die Versuchsgruppen mit alternierenden Haltungsformen wurden ebenfalls 14 Tage nach der Ischämie untersucht. Tiere mit präischämischer Laufaktivität unterschieden sich in keinem untersuchten systemischen Parameter von Tieren mit permanenter Laufkäfighaltung. Ebenso war die Überlebensrate von Tieren, die nach der Ischämie

in Laufkäfige gesetzt wurden, hochsignifikant besser als die von Käfigtieren und unterschied sich nicht von den beiden anderen Gruppen in Laufkäfighaltung. Die Gewichtsentwicklung war erst ab dem 5. Tag nach der Ischämie signifikant schlechter als die der anderen Laufkäfigtiere. Für die vergleichende Bewertung der histologischen Befunde von Tieren in Käfig- oder Laufradkäfighaltung zu den verschiedenen Untersuchungszeitpunkten und bei unterschiedlicher Ischämiedauer wurden die beiden Gruppen mit alternierender Haltung zu einer Gruppe mit Laufkäfighaltung nach 15min Ischämie zusammengefaßt.

Die verschiedenen Sektoren des Hippocampus zeigen nach zerebraler Ischämie in den einzelnen Sektoren neuronale Veränderungen mit unterschiedlichem zeitlichen Verlauf. Im CA1-Sektor scheinen die morphologischen Veränderungen am langsamsten abzulaufen. Erst nach mindestens 4 Tagen waren dort fast alle Nervenzellen nach einer bilateralen 5-minütigen Ischämie zerstört (Kirino 1982).

Zur Beurteilung der Veränderungen in der frühen postischämischen Phase im Vergleich zu den späteren Veränderungen wurden Tiere mit und ohne Laufaktivität am 4. Tag nach der Ischämie fixiert. Da bis zu diesem Zeitpunkt kein Tier gestorben war, gingen alle Tiere in die histologische Bewertung ein.

3.6.2.1.1 Überlebende vs. moribunde Tiere (14 Tage nach Ischämie)

Es wurde geprüft, ob Tiere, die eine 15min Ischämie 14 Tage lang überlebten, im histologischen Präparat mehr intakte Nervenzellen aufweisen als Tiere, die vorzeitig an den Folgen des ischämischen Insults starben. Eine 15min Ischämie verursachte bei beiden Gruppen in allen 3 Sektoren des Hippocampus eine signifikante Reduktion der Nervenzellzahl gegenüber nicht-ischämischen Kontrolltieren.

- CA1-Sektor: Abb. 47a, b und c

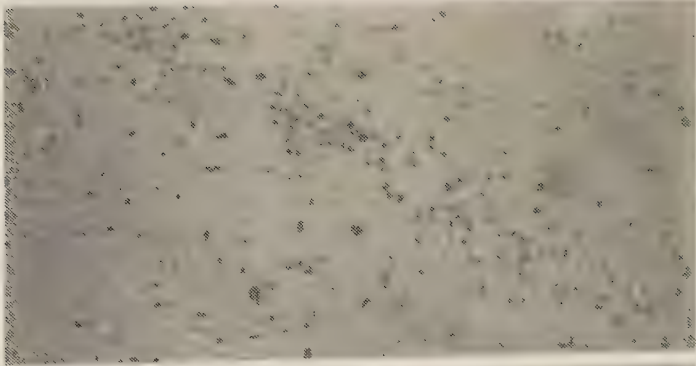
Im histologischen Bild kam es zu einer fast völligen Auflösung der bandartigen Anordnung der Nervenzellen. Die ursprüngliche Lokalisation des Nervenzellverbandes war oft nur undeutlich gekennzeichnet durch eine vermehrte Anzahl und lineare Anordnung von kleinen Vakuolen und glösen Zellen, zwischen denen nur noch vereinzelt Nervenzellen mit unterschiedlichem Schädigungsgrad lagen.

In beiden Gruppen kam es zu einer hochsignifikanten Reduktion der Neuronenzahl ($p < 0.001$). Moribunde Tiere (3.9 ± 0.7 Zellen/Bild) hatten signifikant weniger Nervenzellen als überlebende (6.9 ± 1.2 Zellen/Bild) ($p < 0.05$). Die angegebenen Werte geben die durch Auszählung der 104 Gitterpunkte erfaßten Neurone wieder. Der Vergleich der absoluten Zählung aller Nervenzellen innerhalb der vom Gitter umschlossenen Fläche mit dieser Zählmethode ergab bei scheinoperierten Tieren im CA1-Sektor, daß

a



b



c

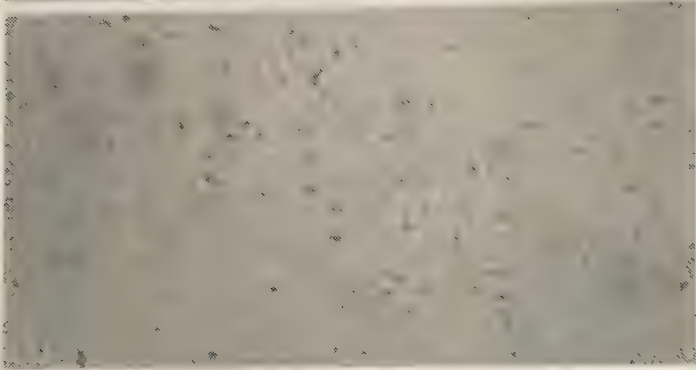


Abbildung 47 a, b und c:
 Histologisches Präparat (Nisslfärbung) eines CA1-Sektor-Teilabschnittes des Hippocampus 1.6-1.7mm caudal des Bregmas (16-fache Objektivergrößerung). Für die Abbildungen 48 und 49a-c gelten entsprechende technische Daten.
 (a) Shamoperation; (b) 15min Ischämie, überlebendes Tier, (c) 15min Ischämie, moribundes Tier.

durch die relative Zellzählung ca. 45% aller Neurone erfaßt werden. Somit verringerte sich die absolute Nervenzellzahl/Bild bei überlebenden Tieren im Vergleich zu Kontrolltieren um 82% auf 15 Neurone, bei moribunden Tieren um 90% auf 9 Neurone pro Bild.

- CA2/3-Sektor: Abb. 48a, b und c

Die Unterschiede zwischen überlebenden und moribunden Tieren treten in diesem Bereich am deutlichsten hervor.

Lichtmikroskopisch war bei den überlebenden Gerbils die Bogenstruktur des Ammons-horns sichtbar erhalten. Im Vergleich zu nicht-ischämischen Präparaten kam es zu einer Ausdünnung des Neuronengürtels beziehungsweise zur Verschmälerung bei erhaltener Kontinuität des Neuronenverbandes. Bei schwererer Schädigung war, vor allem bei moribunden Tieren, von der zur CA1 gerichteten Seite her eine Auflösung der Bogenstruktur (CA2-Anteile des "Bogens") zu beobachten.

Eine 15min Ischämie führte bei überlebenden Gerbils zu einer signifikanten Reduktion von Nervenzellen auf 62.7% der bei Kontrollpräparaten bestimmten Anzahl ($p < 0.05$). Bei moribunden Tieren kam es zu einem weiteren, gegenüber den überlebenden Gerbils hochsignifikanten Verlust auf 14.8% ($p < 0.001$).

Mit Hilfe der relativen Zellzählung wurden bei den überlebenden Tieren 39.6 ± 4.2 Neurone/Gitter gezählt, was bei 68% Nervenzellen 60 Neurone/Bild entspricht. Präparate moribunder Tiere hatten im Mittel 8.9 ± 1.7 Neurone/Gitter bzw. 14 Neurone/Bild.

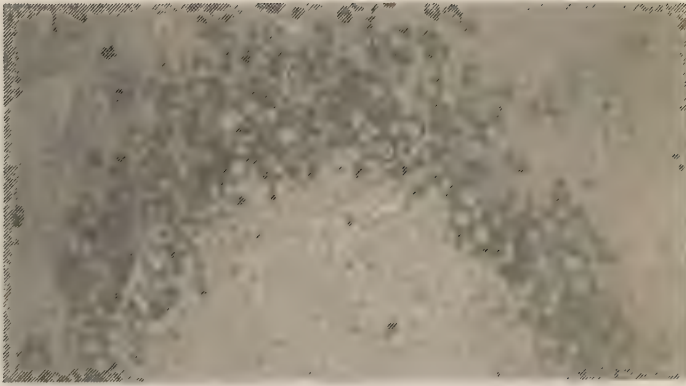
- CA3-Sektor: Abb. 49a, b und c

Bei überlebenden Tieren kam es in diesem Sektor zur Auflockerung des Neuronenverbandes mit unterschiedlicher Intensität. Dem CA2/3-Sektor zugewandte Abschnitte waren dabei meist stärker geschädigt als dem CA4-Sektor benachbarte Anteile. Im CA3-Sektor moribunder Tiere waren nur noch vereinzelt Neurone über die gesamte Sektorlänge verteilt zu finden.

Zahlenmäßig entsprechen die Verhältnisse den beim CA2/3-Sektor genannten Veränderungen. Mit ca 20% der Nervenzellen der Kontrolltiere war die Neuronendichte der moribunden Tiere (7.1 ± 1.3 Neuronen/Gitter) gegenüber überlebenden Tieren mit 24.3

± 2.0 Neurone/Gitter (70%) und den nicht-ischämischen Tieren (100%) hochsignifikant verringert ($p < 0.001$). Bei 60% Nervenzellen entspricht dies 12 Neurone/Bild bei den moribunden und 41 Neurone/Bild bei überlebenden Gerbils.

a



b



c



Abbildung 48 a, b und c:
 Histologisches Präparat der lateralen Konvexität (CA2/3-Sektor) des Hippocampus
 (a, Schenoneoperation; (b) 15min Ischämie, überlebendes Tier, (c) 15min Ischämie, mori-
 bundes Tier.

a



b



c



Abbildung 49 a, b und c:

Histologisches Präparat aus dem linearen Abschnitt des CA3-Sektors des Hippocampus.

(a) Scheinoperation; (b) 15min Ischämie, überlebendes Tier; (c) 15min Ischämie, moribundes Tier.

In Abb. 50 sind die Ergebnisse der histologischen Auswertung nach 14 Tagen Überlebenszeit zusammenfassend dargestellt.

3.6.2.1.2 Käfigtiere vs. Laufkäfigtiere (überlebende Tiere)

In den folgenden Darstellungen sind die verschiedenen Sektoren der beiden Gruppen zu den verschiedenen Untersuchungszeitpunkten vergleichend dargestellt. Folgende Stichprobenzahlen wurden in den einzelnen Gruppen berücksichtigt:

I) Kontrollen: nicht-ischämische, scheinoperierte Tiere, $n=7$

II) 4-Tage-Histologie: Käfig, $n=10$; Laufkäfig, $n=10$

III) 14-Tage-Histologie: Käfig, $n=5$; Laufkäfig, $n=21$

IV) 10-Wochen-Histologie: Käfig, $n=10$; Laufkäfig, $n=8$

- CA1-Sektor: Abb.51

Alle ischämischen Tiere hatten eine signifikant reduzierte Nervenzelldichte ($p < 0.01$). CA1-Sektoren von Tieren mit Laufaktivität hatten mit Ausnahme der nach 2 Wochen untersuchten histologischen Präparate eine signifikant höhere Neuronenzahl. Der große Standardfehler in der Gruppe der Käfigtiere 14 Tage nach der Ischämie ist durch den geringen Stichprobenumfang der Gruppe bedingt. Daher ist eine statistisch gesicherte, vergleichende Aussage mit den entsprechenden Lauftieren nicht möglich. Entsprechendes gilt auch für andere Sektoren.

- CA2/3-Sektor: Abb. 52

Lauftiere hatten nach 4 Tagen in diesem Sektor eine niedrigere Neuronendichte als Kontrolltiere, jedoch ist dieser Unterschied nicht signifikant. Alle anderen Gruppen, mit Ausnahme der Käfigtiere, für die oben Gesagtes gilt, hatten signifikant weniger Nervenzellen als nicht-ischämische Tiere ($p < 0.05$). Zu den einzelnen Untersuchungszeitpunkten gab es zwischen den Gruppen keine statistisch signifikanten Unterschiede. Histologische Präparate von Laufkäfigtieren nach 10 Wochen hatten signifikant weniger Neurone als nach 4 Tagen.

- CA3-Sektor: Abb. 53

Auch im CA3-Sektor kam es nach 15min Ischämie regelmäßig zum Verlust von Neuronen. Bei Tieren in konventionellen Käfigen war diese Abnahme jedoch nach 4 Tagen und 14 Tagen statistisch nicht signifikant. Tiere in Laufkäfighaltung zeigten zu allen Zeitpunkten der histologischen Untersuchung ausgeprägte Nervenzellverluste, die

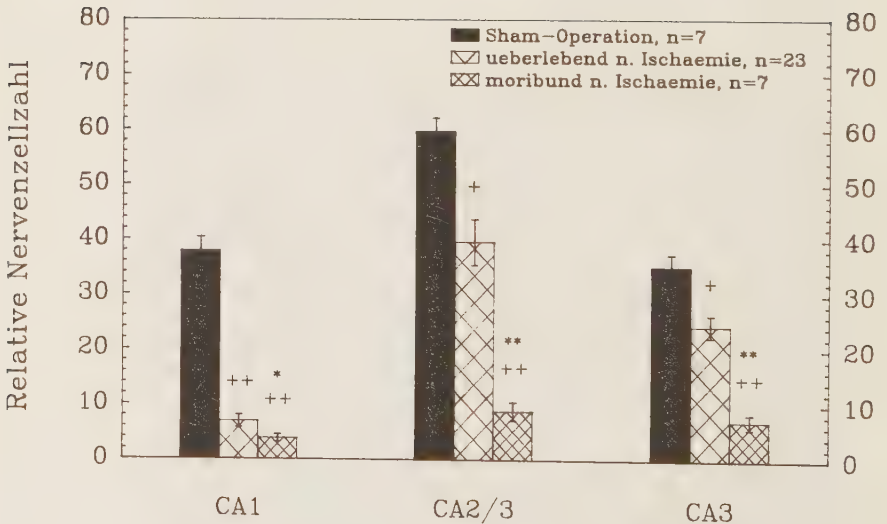


Abbildung 50:

Darstellung der relativen Nervenzellzahl in den 3 ausgewerteten Hippocampus-Sektoren von überlebenden und moribunden Gerbils nach 15min Ischämie im Vergleich zu scheinputierten Tieren. Gewertet wurden dabei nur diejenigen Nervenzellen, die auf den 104 Kreuzungspunkten eines Gitters lagen, das auf den Bildausschnitt projiziert wurde (s. a. Abb. 7 und 8). Die überlebenden Tiere wurden 14 Tage nach der Ischämie perfusionsfixiert. Diese Gruppe umfaßt sowohl Tiere, die ausschließlich in normalen Käfigen als auch abschnittsweise in Laufkäfigen gehalten wurden.

(+ $p < 0.05$; ++ $p < 0.01$ vs. Sham; * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$ vs. überlebende Gerbils)

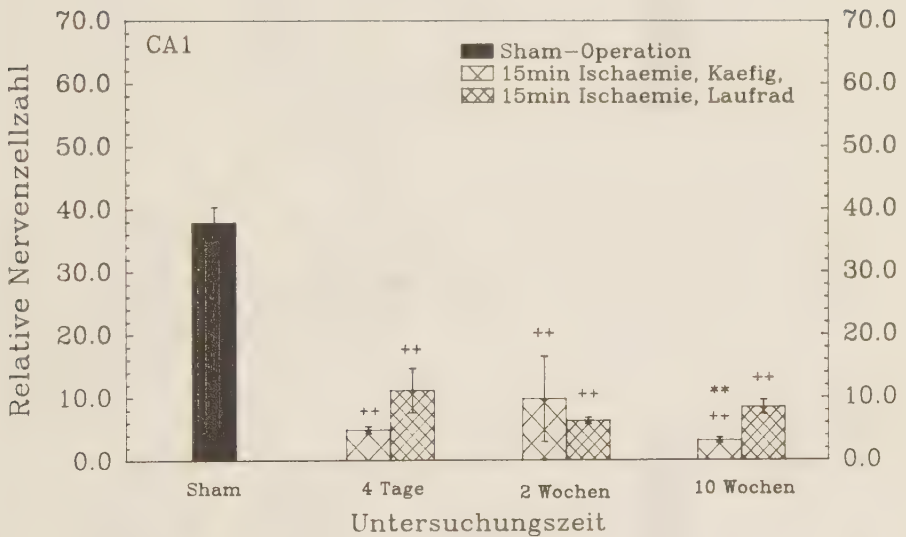


Abbildung 51:

Vergleichende Darstellung der relativen Nervenzellzahl im CA1-Sektor von überlebenden Gerbils in Käfig- oder Laufradkäfighaltung nach 15min Ischämie zu verschiedenen Untersuchungszeitpunkten. Links im Bild die an scheinoperierten Tieren (n=7) ermittelte Kontrollzellzahl.

4 Tage: Käfig n=9; Laufkäfig n=9;

2 Wochen: Käfig n=5; Laufkäfig n=21;

10 Wochen: Käfig n=10; Laufkäfig n=8;

(+ p < 0.05; ++ p < 0.01 vs. Sham; ** p < 0.01 vs. Laufradgruppe)

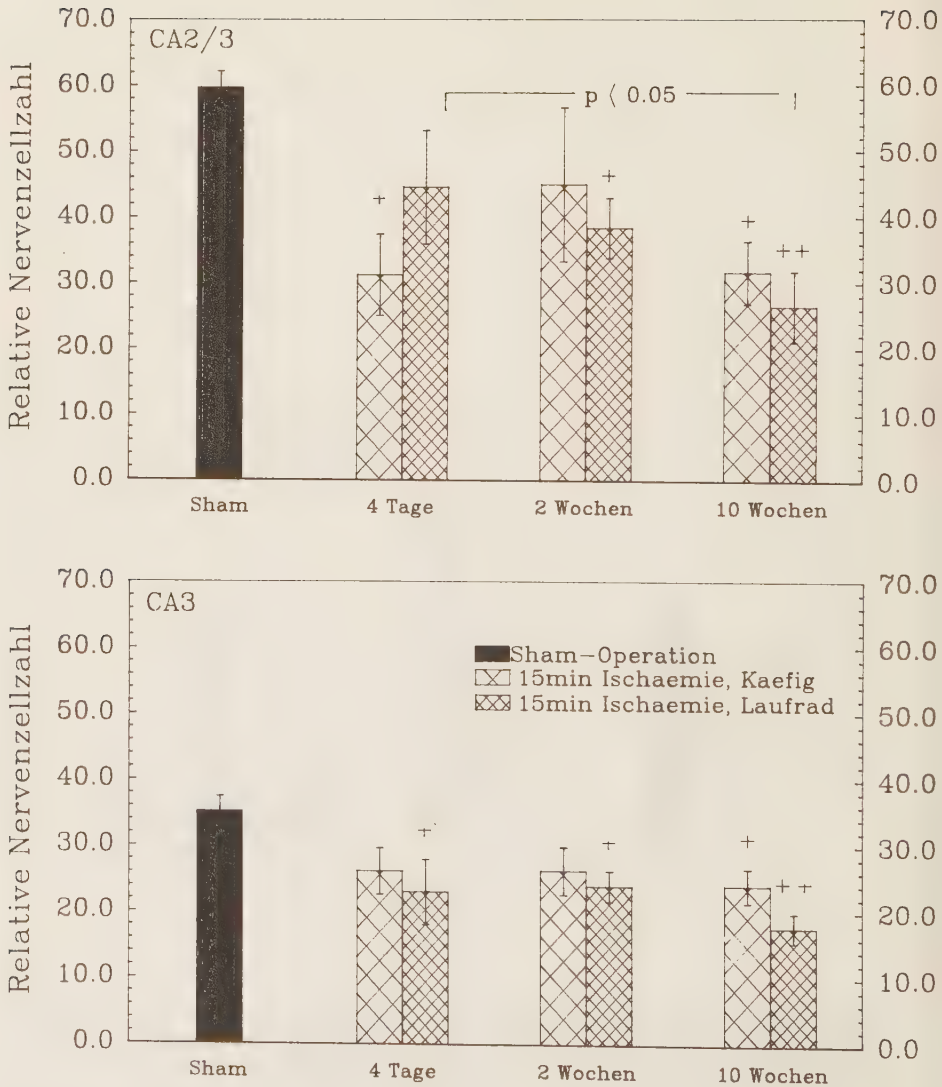


Abbildung 52 und 53:

Vergleichende Darstellung der relativen Nervenzellzahl im CA2/3-Sektor (oben) bzw. CA3-Sektor (unten) von überlebenden Gerbils in Käfig- oder Laufradkäfihaltung nach 15min Ischämie zu verschiedenen Untersuchungszeitpunkten.

4 Tage: Käfig n=9; Laufkäf n=9;

2 Wochen: Käfig n=5; Laufkäf n=21;

10 Wochen: Käfig n=10; Laufkäf n=8;

(+ p < 0.05; ++ p < 0.01 vs. Sham; ** p < 0.01 vs. Laufkäfgruppe)

gegenüber Kontrollpräparaten signifikant waren.

Zu den beiden frühen Zeitpunkten der Untersuchung waren in den beiden Versuchsgruppen mit und ohne körperliche Aktivität in allen ausgewerteten Sektoren vergleichbar viele Nervenzellen erhalten. Anschließend kam es in beiden Gruppen innerhalb der folgenden 8 Wochen zu einem weiteren Verlust von Neuronen, der aber nur bei den Lauftieren im Sektor CA2/3 statistisch signifikant ist.

Beim Vergleich der beiden Gruppen mit und ohne Laufkäfighaltung gilt zu berücksichtigen, daß diese Gruppen unterschiedlich repräsentativ sind. Während von den Käfigtieren nur 40%, nämlich nur die überlebenden Tiere - mit einer u.a. hochsignifikant höheren Nervenzellichte (s. a. 3.6.3.2.1) als bei moribunden Tieren - berücksichtigt werden konnten, wurden bei den Laufkäfigtieren 85% der Versuchsgruppe einbezogen.

3.6.2.2 20min Ischämie

Tiere mit 20min Ischämie wurden nach 14 Tagen perfusionsfixiert. Um mögliche Veränderungen der Überlebensrate und des postischämischen Gewichtsverlaufes gegenüber Tieren mit 15min Ischämie studieren zu können, wurden keine Tiere mit infauster Prognose ante mortem perfusionsfixiert. Die folgenden Ergebnisse beziehen sich ausschließlich auf überlebende Tiere, d. h. 21% Käfigtiere ($n=5$) und 100% Tiere mit Laufaktivität ($n=9$).

Die Ergebnisse nach 20min Ischämie bekräftigen die nach 15min gemachten Befunde. In allen Sektoren kam es zu einer Reduktion der Anzahl von Nervenzellen, die mit Ausnahme des CA3-Sektors der Lauftiere gegenüber den nicht-ischämischen Kontrollen signifikant ist ($p < 0.05$). Zwischen den Tieren in Käfigen und Laufradkäfigen nach 20min Ischämie gibt es keine statistisch signifikanten Unterschiede. (Abb. 54)

3.6.2.3 15 und 20min Ischämie: Vergleichende Betrachtung

Die Verlängerung der Ischämiezeit von 15 auf 20 min verringerte bei den Tieren in Käfighaltung die Überlebensrate von 42% auf 22%, während diese Maßnahme bei den Tieren mit Laufaktivität die Mortalität nicht erhöhte. Um die Auswirkungen auf den Hippocampus erkennen zu können, wurden die histologischen Befunde der Tiere mit gleichen Haltungsbedingungen und gleichem Untersuchungszeitraum nach Ischämie (i. e. 14 Tage) statistisch verglichen.

3.6.2.3.1 Tiere mit Käfighaltung

In allen Sektoren hatten die Tiere nach 20min im Mittel weniger Neurone als Tiere

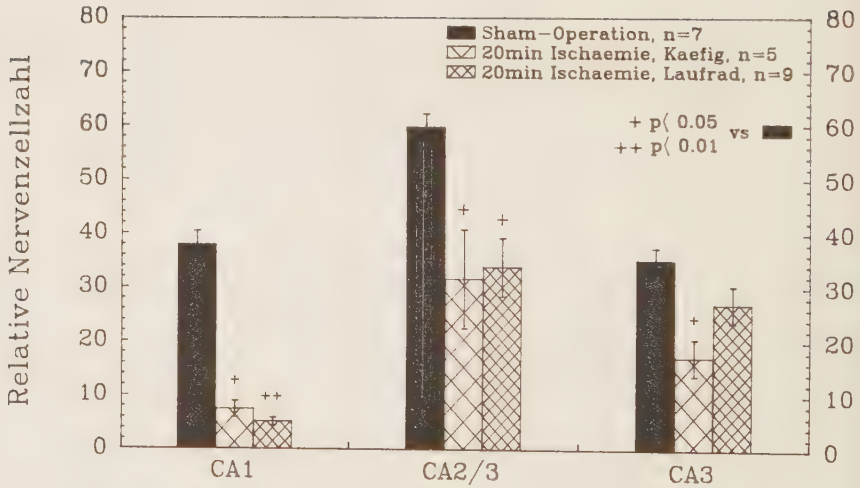


Abbildung 54:

Relative Nervenzellzahl von überlebenden Gerbils in Käfig- oder Laufkäfighaltung nach 20min Ischämie. Die 3 ausgewählten Abschnitte der Hippocampussektoren CA1-3 sind jeweils im Vergleich zu nicht-ischämischen, scheinoperierten Tieren dargestellt. Die überlebenden Käfig- und Laufkäfigtiere (21% bzw. 100% der Versuchsgruppe) wurden 14 Tage nach der Ischämie für die histologische Untersuchung perfusionsfixiert.

nach 15min Ischämie. Wegen des geringen Stichprobenumfangs der beiden Versuchsgruppen ($n=5$) kann keine statistisch gesicherte Aussage gemacht werden. (Abb. 55)

3.6.2.3.2 Tiere mit Laufkäfigen

Die Werte der relativen Nervenzellzählung weichen in den beiden Gruppen nur geringgradig und nicht signifikant voneinander ab, wobei keine einheitliche Tendenz in den einzelnen Sektoren erkennbar ist. (Abb. 56)

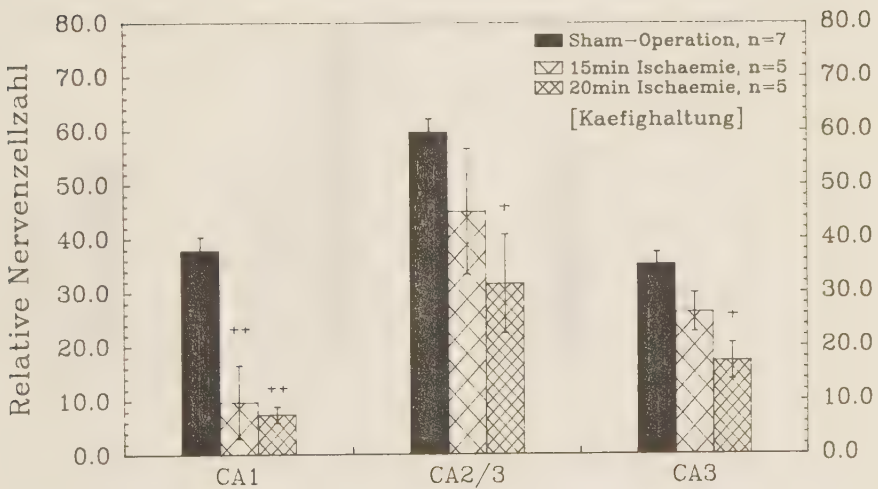


Abbildung 55:

Vergleichende Darstellung der relativen Nervenzellzahl (14 Tage Reperfusion) von überlebenden Gerbils in konventioneller Käfighaltung nach 15 und 20min Ischämie. (+ $p < 0.05$; ++ $p < 0.01$ vs. scheinputierte, nicht-ischämische Tiere)

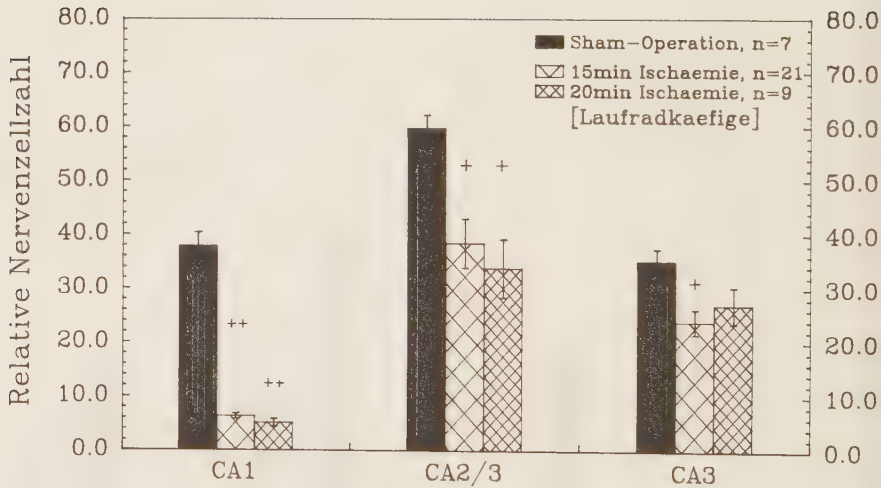


Abbildung 56:

Relative Nervenzellzahl (14 Tage Reperfusion) von überlebenden Gerbils in Laufkähligung nach 15 und 20min Ischämie. In der Versuchsgruppe mit 15min Ischämie sind Tiere mit ausschließlich prä- bzw. postischämischer Laufaktivität zusammengefaßt. (+ $p < 0.05$; ++ $p < 0.01$ vs. scheinooperierte, nicht-ischämische Tiere)

3.7 Zusammenfassung der Ergebnisse

- 1) Gerbils mit Anfallsneigung hatten eine signifikant höhere Überlebensrate als anfallsfreie Gerbils nach 15min Großhirn-Ischämie.
- 2) Der in der postischämischen Phase auftretende Körpergewichtsverlust der Tiere war ein sicherer Parameter für das Überleben der Tiere:
Bereits am 2. Tag nach einer 15 oder 20min Ischämie unterschied sich der prozentuale Gewichtsverlust der moribunden Tiere hochsignifikant von dem der überlebenden.
- 3) 15 oder 20 minütige Ischämie führte bei Gerbils zu einer signifikanten Steigerung der motorischen Aktivität in den ersten 5 Tagen nach dem Insult. Es kam dabei zu Veränderungen der zirkadianen Rhythmik mit einer Reduktion der Schlafphasen.
- 4) Vermehrte körperliche Aktivität durch Haltung in Laufradkäfigen führte bei Gerbils nach 15 oder 20min Ischämie zu einem hochsignifikanten Anstieg der Überlebensrate. Dieser Effekt war unabhängig davon, ob die Tiere nur vor oder nur nach der Ischämie oder während der gesamten Versuchsphase in Laufkäfigen gehalten wurden. Dabei schien, wie auch die postischämische Gewichtsentwicklung und das Wiedereinsetzen der Nageaktivität zeigten, die präischämische Laufaktivität gegenüber der postischämischen tendenziell wirksamer zu sein.
- 5) Der durch eine 15min Ischämie induzierte Nervenzellverlust im Bereich des dorsalen Hippocampus war bei den Tieren, die starben, signifikant größer als bei den überlebenden Tieren. Dabei wurden die deutlichsten Unterschiede in den Sektoren CA2 und CA3 gefunden. Bei überlebenden Tieren gab es keine signifikanten Unterschiede bezüglich des Nervenzelluntergangs zwischen Tieren mit ausschließlicher Käfighaltung und Tieren in teilweiser oder dauernder Laufkäfighaltung.

4. DISKUSSION

4.1 METHODIK

4.1.1 Auswahl des Versuchstieres

Seit seiner erstmaligen Einführung als Labornager im Jahre 1954 (Schwentker, 1963) hat das Gerbil (*Meriones unguiculatus*), ein kleiner (60-100g), dämmerungsaktiver Wüstennager aus den Trockensteppen und Halbwüsten Osteuropas, Asiens und Afrikas, verbreitete Anwendung als Versuchstier in der biomedizinischen Forschung gefunden. Sein ursprünglicher Lebensraum prädisponierte das Gerbil als Studienobjekt zu Fragen des Metabolismus, des Futterverbrauches, der Temperaturregulation und des Wasserhaushaltes eines an das Wüstenleben angepaßten Säugetieres. 1966 untersuchten Levine und Payan (Levine, 1966) erstmals die Effekte eines permanenten, ein- oder beidseitigen Verschlusses der Arteria carotis communis auf das Gehirn und die Retina. Sie fanden, daß 100% der Tiere nach beidseitiger Ligatur in weniger als 4h starben und daß 20% der Tiere nach einseitigem Verschluß schwere neurologische Schädigungen erlitten und innerhalb von 48h den Folgen dieser Schäden erlagen. Die Autoren vermuteten damals unzureichende Anastomosierungen des zerebralen Blutkreislaufes, aber es lagen zu diesem Zeitpunkt keine genaueren Untersuchungen zur speziellen Gefäßanatomie des Gehirns des Gerbils vor. In der Folgezeit war dieses Problem Gegenstand zahlreicher, oft widersprüchlicher Untersuchungen.

4.1.1.1 Bedeutung der gefäßanatomischen Besonderheiten des Gerbils für das Modell der bilateralen Karotis-Okklusion

Levine und Sohn (1969) konnten an Serienschnitten von Hirnen 6 adulter Gerbils keine Gefäßverbindung zwischen dem vorderen Hirnkreislauf über die A. carotis int. und dem hinteren über die Aa. vertebrales via A. basilaris finden. Zugleich wiesen die Autoren jedoch auf eine unterschiedliche Anastomosierung der beiden Aa. cerebri anteriores hin. Dieser Befund hat vor allem Bedeutung für das Modell der permanenten unilateralen Karotis-Okklusion, da bei bestehender Verbindung der beiden vorderen Hirnarterien eine Perfusion der ischämischen Großhirnhälfte über die Anastomose möglich ist. Kahn (1972), Harrison (1973), Berry et al. (1974), Donadio et al. (1982) bestätigten in ihren Untersuchungen das Fehlen einer Verbindung zwischen den Kreisläufen der A. carotis int. und A. vertebralis. Andererseits konnten mit post-mortem und in-vivo durchgeführten Tuscheperfusionen Levy und Brierley (1974) an adulten Gerbils in allen Fällen 30-60µm starke Arteriolen nachweisen, die, aus der A.basilaris entspringend, mit den Aa. cerebri posterior in Verbindung traten und so eine Anastomosierung der beiden Gefäßsysteme bildeten. Während bei allen Tieren das Klein-

und Stammhirn einheitlich durch die Tuschefüllung der Gefäße angefärbt wurde, blieb bei 4 von 10 Tieren das Vorderhirn nach beidseitiger Okklusion der Karotiden ohne Färbung. Das unterschiedliche Ausmaß der Perfusion konnte weder mit verschiedenen Verschlusstechniken der Gefäße noch mit Krampfaktivität während der Gefäßokklusion in Verbindung gebracht werden. Sie schlossen aus ihrer Untersuchung, daß der beidseitige Verschuß der A. carotis comm. nicht in allen Fällen eine vollständige zerebrale Ischämie beim Gerbil bewirkt und die variable Anzahl und Größe von anastomosierenden Gefäßen zu den unterschiedlichen Folgeerscheinungen nach einem Verschuß der Karotiden beiträgt.

In eigenen Korrosionspräparaten der zerebralen Gefäße konnte bei 10 Tieren in keinem einzigen Fall ein vollständiger Circulus Willisi nachgewiesen werden. Das Ausgußmaterial, eine niedrigvisköse Kunststoffmischung auf Polyesterbasis, führt bei intraarterieller Applikation einerseits zu einer vollständigen Füllung des Kapillarbettes des betreffenden Organes, andererseits nach kurzer Aushärtungszeit zu einem sehr formbeständigen Präparat (Amselgruber 1987). Die genauen Gefäßverhältnisse können nach Mazeration des Organgewebes für eine mikroskopische Untersuchung verwendet werden.

4.1.1.2 Altersbedingte Veränderungen

Levine (1969) konnte bei neugeborenen Gerbils bis zu einem Alter von 9 Tagen nach unilateraler permanenter Karotisligatur in keinem Fall Infarkte der unilateralen Seite nachweisen, während Jungtiere im Alter von 5-7 Wochen weitaus weniger resistent (nur ca 2/3 der Tiere) waren. Als Erklärung führt Matsuyama (1983) an, daß neugeborene Gerbils ein gut entwickeltes Netz von Kollateralverbindungen zwischen den Gefäßsystemen der A. basilaris und der A. carotis besitzen und darin die Ursache für eine erhöhte Resistenz zu sehen ist. Er untersuchte an neugeborenen (3-4 Wochen), juvenilen (5-7 Wochen) und erwachsenen (10-17 Wochen) Gerbils das Ausmaß der zerebralen Perfusion während eines bilateralen Karotisverschlusses mit Hilfe einer in-vivo Tuschefärbung. Bei keinem Tier der älteren Versuchsgruppen kam es zu einer Anfärbung des Vorderhirns, während bei 5 von 8 Tieren im Alter von 3-4 Wochen das gesamte Hirn angefärbt wurde. Die Autoren empfehlen deshalb, für Untersuchungen nur Tiere ab einem Alter von 5 Wochen heranzuziehen. Payan (1977) fand bei präpubertären und weiblichen Tieren, sowie bei adulten männlichen Tieren, die vor Eintritt der Geschlechtsreife kastriert wurden, eine signifikant niedrigere Morbidität und Mortalität nach unilateraler, permanenter Ligatur der A. carotis com.. Er sieht die Ursache dieses Phänomens in Beobachtungen bei Ratten und Menschen begründet (Gordan 1956), daß der zerebrale Blutfluß vor der Geschlechtsreife ungefähr doppelt

so hoch ist wie nach der Pubertät und daß nur eine Resektion der Gonaden vor Eintritt der Geschlechtsreife eine Absenkung der zerebralen Flußrate verhindern kann.

Eigene Perfusionsstudien mit Hilfe von Gefäßkorrosionspräparaten an 6 Jungtieren im Alter von 20 Tagen konnten keine vollständige Durchblutung des Vorderhirns und keinen kompletten Circulus Willisi während der beidseitigen Karotisligatur nachweisen. Im Vergleich zu älteren Tieren stellten sich jedoch zahlreichere kleine Gefäßbündel an der Bifurkation der A. basilaris dar, die größere Teile des Mittelhirnes erreichten.

4.1.2 Bedeutung der Krampfneigung

Auf eine weitere Besonderheit wies Thiessen (1968) hin. Er beschrieb bei ca. 50% der Tiere einer Zuchtkolonie spontane epileptiforme Anfälle nach Konfrontation mit einer fremden Umgebung. Dabei schien nicht so sehr die Reizqualität als vielmehr die Intensität eine Rolle als Auslöser für einen Anfall zu spielen. Die Anfälle verliefen in unterschiedlicher Intensität nach stereotypen, reproduzierbaren Mustern und waren für die einzelnen Tiere charakteristisch. Loskota (1974) schlug zur Klassifizierung der Anfälle ein 6-Stufen-System vor, nach dem eine eindeutige Zuordnung der Schweregrade der Krämpfe möglich ist.

Die rasche und weite Verbreitung des Gerbils als Versuchstier im Bereich der Epilepsie- und Ischämieforschung erfordert, die Ursachen und Modalitäten der spontanen, motorischen Anfälle genauer zu klären. Im folgenden soll eine kurze Literaturübersicht über verschiedene Faktoren zur Anfallsdisposition des Gerbils wiedergegeben werden.

4.1.2.1 Alter

Kaplan (1972) beobachtete erste Krampfaktivitäten ab einem Alter von ca. 2 Monaten, eine Verstärkung der Krampfintensität über den sechsten Lebensmonat hinaus. Loskota (1974) ermittelte den Beginn der Anfälle bei weiblichen Tieren am Tag 47 ± 3 , bei männlichen Tieren am Tag 57 ± 3 nach der Geburt. Die Anfallsintensität der Tiere wuchs zum 4. bis 6. Lebensmonat an und blieb anschließend konstant. Die Tiere wurden ab dem 30. Lebenstag 1x pro Woche getestet. Wurden Tiere ab der ersten Lebenswoche getestet, wurde die Anfallsdisposition fast vollständig unterdrückt. Von 62 Tieren hatte nur ein Gerbil im Alter von 17 Wochen einen Anfall (Kaplan 1972). Die Autoren schreiben diese Beobachtung der Tatsache zu, daß die ersten 3 Lebenswochen eine außergewöhnliche Bedeutung für spätere Einflüsse auf das Individualverhalten haben. Diese frühen Stimuli haben einen irreversiblen Einfluß auf die Reizschwelle bestimmter

Gebiete des Zentralnervensystems.

4.1.2.2 Gefäßarchitektur

Schonfeld und Glick (1979) untersuchten Unterschiede der Gefäßarchitektur von anfallsfreien und -dispositionierten Gerbils. Bei 80% der krampfanfälligen Versuchsgruppe fanden sich zwei getrennt verlaufende Aa. cerebri anteriores, während 90% der anfallsfreien Tiere eine, durch den Zusammenschluß beider Gefäße auf Höhe des Chiasma opticum unpaare, A. cerebri anterior besaßen. Berry (1975) hingegen fand, daß diese gefäßanatomische Variabilität unmittelbar mit der unterschiedlichen Morbidität und Mortalität der Tiere nach einseitiger, permanenter Karotisligatur in Beziehung steht und deshalb für Versuchsanordnungen, die dieses Ischämiemodell verwenden, von Bedeutung ist.

4.1.2.3 Genetische Faktoren

Loskota (1974) beschrieben die Zucht eines anfallsdispositionierten Stammes WJL/UC durch Inzucht aus 3 Stammpaaren über 18 Generationen mit einer Krampfinzidenz von 97% bei 6 Monate alten Tieren. Durch entsprechende Zuchtwahl konnten sie ebenfalls einen resistenten Stamm STR/UC etablieren. Eder (1982) gelang durch selektive Zuchtauswahl, innerhalb von 10 Generationen die Krampfinzidenz von 20% auf über 80% zu erhöhen. Seaman (1977) vermutet, daß diese Anfallsneigung autosomal als dominantes Merkmal mit unvollständiger Penetranz vererbt wird.

Durch extensive Selektion konnte der Anteil der anfallssensitiven Tiere in der eigenen Zucht innerhalb von 18 Monaten von ca. 35% auf über 80 % gesteigert werden.

4.1.2.4 Metabolische Faktoren

Seregi (1984) fand signifikant niedrigere Prostanoidspiegel (PGD_2 , PGE_2 , 6-keto-PGF_{1 α}) im Hirngewebe von krampfanfälligen Tieren. Wurden Tiere ohne Anfallsneigung mit Indomethacin vorbehandelt, zeigten 61% von ihnen leichte bis mittlere Krampfaktivitäten. Indomethacin vermindert durch Hemmung der Cyclooxygenase die Neusynthese von Prostanoiden und führt dadurch zu geringeren Konzentrationen im Gewebe.

Neben den Prostanoiden scheinen auch biogene Amine einen wichtigen Einfluß auf die Krampfneigung zu besitzen.

Ein pharmakologisch induzierter, zentral erhöhter Spiegel der biogenen Amine Noradrenalin und Dopamin senkte die Krampfintensität von anfallsdispositionierten Gerbils (Cox 1976). Die exogene Applikation des dopaminergen Agonisten Apomorphin führte zur fast vollständigen Protektion vor Anfällen. Aus ihren Befunden schließen die Autoren, daß eine genetisch determiniert unterschiedliche, regionale Verteilung und Me-

tabolisierung der Katecholamine im Gehirn für die Anfallsneigung mitverantwortlich sein könnte (Cox 1976).

4.1.2.5 Anfallsneigung und Ischämie

Das Modell der Großhirn-Ischämie des Gerbils nach bilateraler Karotis-Okklusion wurde von zahlreichen Arbeitsgruppen zur Untersuchung der selektiven Vulnerabilität des Hippocampus, des Hirnödems, von Mediatoren des sekundären Hirnschadens und zur Erprobung neuer Pharmaka eingesetzt. Die verwendeten Versuchstiere entstammten meist eigenen Züchtungen und unterschieden sich in Alter und Geschlecht und auch in der Häufigkeit der spontanen Krampfneigung innerhalb einer Versuchspopulation. Untersuchungen über die Bedeutung der spontanen Krampfneigung von Gerbils für die Morbidität und Mortalität nach zerebraler Ischämie sind bislang nur bei der **einseitigen Karotisligatur** durchgeführt worden. Eine fehlende Anastomosierung der Aa. cerebri ant. wurde einerseits als Ursache der spontanen Krampfneigung (s. 4.1.1.2) angesehen, andererseits (Berry 1975) für die unterschiedliche Neigung zur Hirninfarktbildung nach einseitigem Karotisverschluß verantwortlich gemacht. Entgegen früheren Beobachtungen (Levine 1966, Levine 1969, Kahn 1972), die die Infarktneigung der Tiere durch eine ungenügende oder fehlende Verbindung zwischen den beiden zerebralen Kreisläufen bedingt sahen, führte Berry (1975) diesen Prozeß auf eine fehlende Anastomosierung der paarigen Aa. cerebri ant. zurück. Schonfeld (1979) zog aus diesen beiden Untersuchungen den Schluß, daß sowohl die Neigung zu Krampfanfällen wie auch die Inzidenz zur Infarktbildung durch diesen gefäßanatomischen Unterschied bedingt seien. Donadio et al. (1982), die Latex-Ausgußpräparate herstellten, fanden weder eine signifikante Beziehung zwischen Anfallsneigung der Tiere und den Unterschieden der Gefäßanatomie der Aa. cerebri ant., noch zwischen Krampfneigung und Infarktbildung. Die Autoren betonen darüber hinaus die unterschiedliche Ätiologie und Genese von spontan und während der Gefäßokklusion auftretenden Anfällen.

Cohn (1979) konnte durch Ableitung des EEG während der bilateralen Ligatur der Karotiden zeigen, daß innerhalb von 3min die Amplitude des EEG isoelektrisch wird und die anschließenden, vor allem tonischen Krampfaktivitäten ihren Ursprung im Rückenmark durch eine fehlende, zentrale Inhibition haben. Beim natürlichen, spontanen Krampfanfall dagegen werden am Anfang 30-45sec dauernde, paroxysmale Entladungen der Hirnrinde gefunden (Loskota 1975, Donadio 1982).

In den eigenen Untersuchungen hatten Gerbils mit Krampfneigung nach 15min bilateraler Karotis-Okklusion eine signifikant bessere Überlebensrate. Die Ergebnisse der Perfusionsstudien während eines beidseitigen Karotisverschlusses mit Hilfe der Ausgußpräparate (s. 4.1.1.1) lassen vermuten, daß eine unterschiedliche Gefäßanatomie der

beiden vorderen Hirnarterien bei diesem Modell für das Überleben ohne Bedeutung ist. Diese Gefäße, aus der A. carotis int. entspringend, werden während der Ischämie weder direkt über die A. carotis noch indirekt, bei Bestehen eines inkompletten Circulus Willisi, über die Vertebralarterien perfundiert. Allerdings ist die Anzahl der untersuchten Tiere (n=10) zu gering, um eine funktionelle Verbindung der beiden Hirnkisläufe sicher ausschließen zu können.

Die sehr unterschiedlichen Befunde bezüglich der Ätiologie der Anfallsneigung und ihre bislang ungeklärte Bedeutung für metabolische, gefäßanatomische, systemische und spezifisch zentrale Besonderheiten der krampfanfälligen Tiere machen deutlich, wie wichtig eine genaue Charakterisierung der verwendeten Versuchstiere im Modell der temporären Großhirn-Ischämie des Gerbils ist. Weil verschiedene Arbeitsgruppen unterschiedliche Tierpopulationen bezüglich Gewicht, Geschlecht, Alter, Anfallsdisposition für ihre Versuche heranziehen, ist eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse kaum möglich.

4.1.3 Anästhesie und Körpertemperatur

Zur schmerzfreien Präparation der Halsgefäße und Induktion der Ischämie werden von einzelnen Arbeitsgruppen sehr verschiedene Sedations- und Anästhesieverfahren gewählt. Die Überlebensrate der Tiere nach einer definierten, temporären zerebralen Ischämie stellt bei diesem Modell einen einfachen und wichtigen Parameter für die Beurteilung von therapeutischen Maßnahmen oder schädigenden Mechanismen dar. Wie sehr dieser häufig verwendete Parameter alleine durch die Wahl der Narkose beeinflusst werden kann, ist in Abbildung 57 zusammenfassend dargestellt.

Yoshida (1983) verglich die Effekte einer 2%-Halothan- und Barbituratnarkose (70mg/kg KGW) nach 30min bilateraler Karotisokklusion. Während nach 14 Tagen alle Tiere der Halothan-Gruppe verstorben waren, betrug die Überlebensrate nach Barbituratnarkose 37.5%. Die Protektion kann auf einer Dämpfung des neuronalen Metabolismus (Katzman 1977), auf einer verminderten Hydrolyse von Membranphospholipiden und Peroxidation freier Arachidonsäure (Yoshida 1983) oder auch auf anti-exzitotoxischen Effekten von Barbituraten an glutaminergen Rezeptoren zentraler Nervenzellen beruhen (Olney 1986).

Bei Ischämiezeiten über 10min Dauer in Ketaminhydrochlorid-Narkose (40-60mg/kg KGW) beobachtete Jarrott (1980) eine respiratorische Insuffizienz, z.T. mit Todesfolge. Ketamin erhöht den zerebralen Blutfluß (Takeshita 1972) und wirkt auf den ischämi-

ÜBERLEBENS RATEN VON GERBILS NACH BILATERALER CAROTIS - OKKLUSION

Ischämie-Dauer	Narkose	Überleben (%) n. 24 Std	Autor
15 min	Ketamin	50%	Jarrott, 1980
20 min	Urethan	100%	"
20 min	Ketamin	0%	"
15 min	Na ⁺ -Pento - barbital	100% 100%*	Du Bois, 1985
15 min	Ketamin	42%	Fujisawa, 1986
15 min	Halothan	90% 30%*	Kempski, 1985
*Überleben (%) n. 7 Tagen			Weber, 1987

Abbildung 57:

Überlebensraten von Gerbils nach 15 und 20min bilateraler Karotis-Okklusion unter Verwendung verschiedener Anästhetika. Die Angaben beziehen sich auf 24h Überlebenszeit, Beobachtungszeiträume von 1 Woche sind mit einem (*) gekennzeichnet.

schen Nervenzellschaden, ähnlich den Barbituraten, durch Inhibition des Glutamat-induzierten Ca^{2+} -Einstroms in die Nervenzelle protektiv (Olney 1986, Marcoux 1987).

Fraglich erscheint die Verwendung von Diethylether (McGraw 1976) als volatiles Anästhetikum beim Gerbil. Aufgrund der starken Reizung der Atemwege wurden bei längerer Ischämiedauer starke Atembeschwerden und Todesfälle während und nach der Okklusion beobachtet (Jarrott 1980).

Die Einleitung der Narkose mit Halothan-Luftgemisch (4%) verlief in allen Fällen rasch und komplikationslos. Durch die ebenfalls schnell erfolgende Abflutung war die Anästhesie gut steuerbar und konnte ohne größeren Einfluß auf Vorgänge in der postischämischen Phase auf ein Mindestmaß begrenzt werden. Kein Tier starb an präparationsbedingten Folgen, alle Tiere erlangten nach ca. 10-20min wieder das Bewußtsein.

Die Art der Narkose hat darüber hinaus einen entscheidenden Einfluß auf die Körpertemperatur während und nach der Ischämie. Smialek (1979) beobachtete während einer 15min Ischämie in Barbituratnarkose einen Abfall der Körpertemperatur auf 28°C. Auch eine Applikation von Pentobarbituraten zu Beginn der Reperfusionsphase verursachte eine Verminderung der Körpertemperatur auf weniger als 30°C. Untersuchungen von Dempsey (1987), nach denen eine Hypothermie zur Abschwächung des ischämischen Insults führt, unterstreichen die Bedeutung der kontinuierlichen Überwachung einer konstanten, physiologischen Körpertemperatur während und nach der Operation.

Zusammenfassend kann gesagt werden:

Obwohl die bilaterale Okklusion der A. carotis communis rasch und einfach ist (Ito 1975), muß bezüglich

- (1) Alter und Geschlecht des Tieres
- (2) Krampfneigung
- (3) Art der Narkose
- (4) operative Bedingungen (Art der Ischämieinduktion, Temperaturkontrolle während und nach der Ischämie) standardisiert werden.

Beim Vergleich und bei der Interpretation von Befunden verschiedener Arbeitsgruppen müssen alle obengenannten Parameter berücksichtigt werden.

4.2 SYSTEMISCHE VERÄNDERUNGEN NACH GROßHIRNISCHÄMIE

In Abbildung 58 sind die Befunde der Arbeit in ihrer Beziehung zueinander schematisch

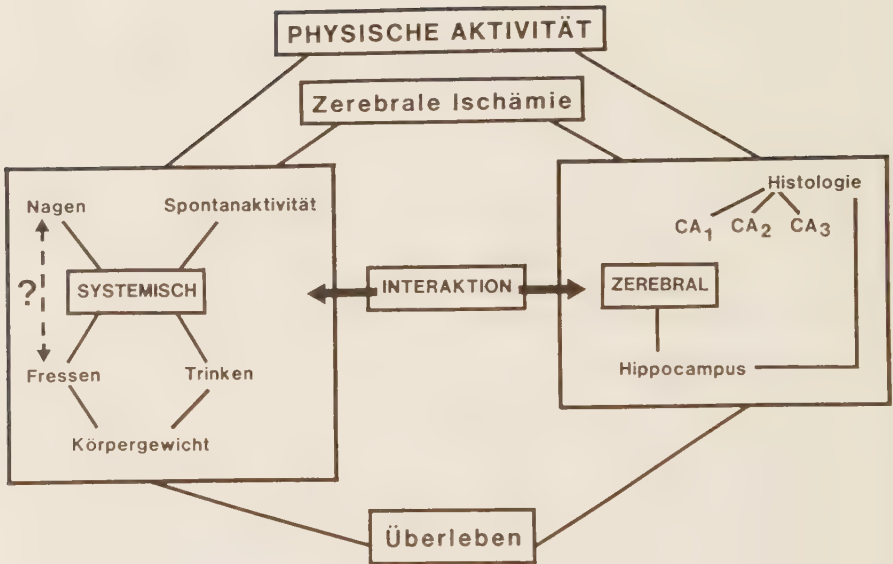


Abbildung 58:

Schematische Darstellung der beobachteten Veränderungen nach einer temporären Großhirn-Ischämie bei der Mongolischen Wüstenrennmaus. Es lassen sich systemische und intrakranielle, zerebrale Effekte beobachten. Ihre Bedeutung für das Überleben eines Tieres nach dem ischämischen Insult, mögliche Interaktionen zwischen systemischen und zerebralen Veränderungen sowie ihre Beeinflussung durch erhöhte physische Aktivität in Laufradkäfigen werden im Text diskutiert.

dargestellt. Die erfaßten Veränderungen nach einer Großhirn-Ischämie lassen sich demnach 2 Hauptgruppen zuordnen:

- (1) Systemische Veränderungen
- (2) Intrakranielle, zerebrale Veränderungen

Da dem Hippocampus spezifische Aufgaben zugeordnet werden, soll eine kurze Übersicht über dessen Anatomie und Funktion vorausgeschickt werden.

4.2.1 Aufbau und physiologische Bedeutung des Hippocampus

4.2.1.1 Anatomie

Systematisch ist die Hippocampus- oder Ammonshornformation als Teil der Pars limbica rhinencephali des Lobus limbicus dem Riechhirn (Rhinencephalon) zuzuordnen (Seif-erle 1975). Diese Formation, die Teil des nicht direkt an der Olfaktion beteiligten, unspezifischen Anteils des Riechhirns ist, läßt sich in folgende Anteile unterteilen:

- Gyrus dentatus
- Hippocampus oder Cornu ammonis
- Fimbria hippocampi
- Fornix
- Commissura fornicis

Die äußere Form des Hippocampus ähnelt der eines Kommas. Mit seinem Körper liegt es der Wand des unteren Horns des Seitenventrikels an und verläuft mit seinem Schwanz in Richtung auf das Corpus callosum.

Abb. 59 zeigt die wichtigsten histologischen Strukturen eines Querschnittes durch ein Ammonshorn. Die Nervenzellen des Hippocampus sind in einer hufeisenähnlichen Form angeordnet, wobei die Zellen des Gyrus dentatus (GD) in entsprechender Formation ein Ende des Hippocampus, den CA4 (=Cornu ammonis 4)- Sektor, umschließen. Die Zellkörper der beiden beschriebenen Strukturen liegen dicht aneinandergereiht, die jeweiligen Dendriten parallel in charakteristischen Schichten (Green 1964):

- (1) Alveus oder Muldenblatt: besteht ausschließlich aus afferenten und efferenten Axonen, die in der Commissura fornicis (CF) auch zum contralateralen Hippocampus hin verlaufen.
- (2) Stratum oriens: Basale Dendriten von Pyramidenzellen.
- (3) Stratum pyramidale: Zellsoma der Pyramidenzellen, morphologisch und funktionell in den Sektoren CA1-3 unterschieden.
- (4) Stratum radiatum: große apikale Dendriten der Pyramidenzellen. Einzelne

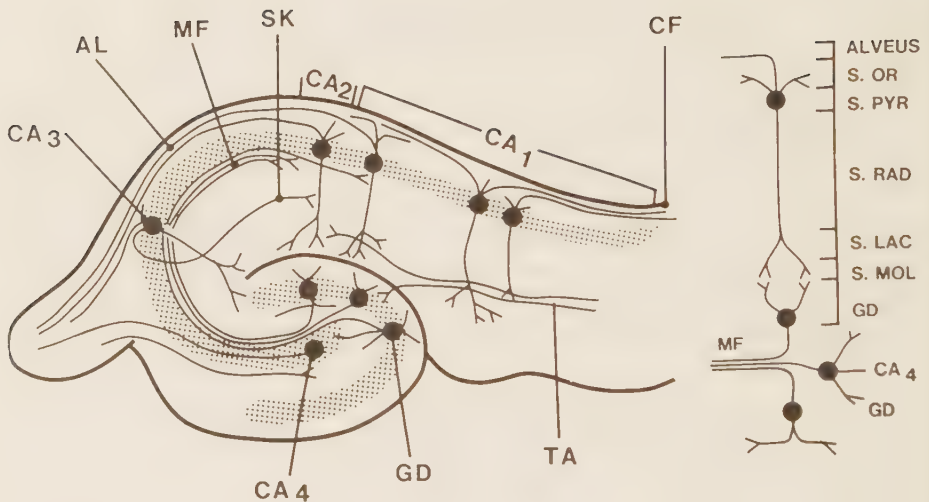


Abbildung 59:

Im linken Bildteil sind die einzelnen Anteile des dorsalen Hippocampus schematisch dargestellt (nach Green 1964). Die Lage der Pyramidenzellen (schwarze Punkte) in den einzelnen Sektoren CA1-4 (Cornu ammonis 1-4) sowie der Körnerzellen (schwarze Punkte) des Gyrus dentatus (GD) sind durch die gepunkteten Flächen wiedergegeben. Die Linien symbolisieren intrahippocampale Nervenfasern (MF: Moosfasern oder "mossy fibers"; SK: Schaeffer's Kollateralen) und extrahippocampale Afferenzen und Efferenzen (AL: Alveus; CF: Commisura fornicis; TA: Tractus temporo-ammonis oder Perforant Path).

Im rechten Teil der Abbildung sind die einzelnen Schichten des Hippocampus bei einem Sagittalschnitt auf Höhe des mit CA2 bezeichneten Abschnittes dargestellt (nach Green 1964).

(S.OR): Stratum oriens; (S.PYR): Stratum pyramidale; (S.RAD): Stratum radiale; (S.LAC): Stratum lacunosum; (S.MOL): Stratum moleculare; (GD): Gyrus dentatus; (MF): Mossy Fibers; (CA4): CA4-Sektor des Hippocampus.

Axone der Pyramidenzellen des CA2/3-Sektors, die in dieser Schicht auf die Dendriten im CA1-Sektor zu verlaufen, werden Schaffer'sche Kollaterale (SK) genannt.

Als Moosfasern ("mossy fibers"; MF) werden Axone der Dentatus-Zellen bezeichnet, die im Bereich des CA3-Sektors an der Grenze zwischen Str. radiatum und pyramidale verlaufen.

- (5, 6) Stratum lacunosum und moleculare: Endverzweigungen afferenter Axone des Tractus temporo-ammonis (TA) und der Spitzendendriten von Pyramidenzellen.

4.2.1.2 Funktion

Der Hippocampus als Teil des Limbischen Systems stellt ein wichtiges Integrations- und Koordinationszentrum dar, von dem sensorische, somatische, vegetative und vermutlich auch hormonale Vorgänge beeinflusst werden (Seiferle 1975).

Aufgrund seiner unzugänglichen Lokalisation wurde diesem Hirnareal, dem "Rhinencephalon" oder "Lobus limbicus", lange Zeit wenig wissenschaftliches Interesse zuteil. Ihm wird hauptsächlich eine Beteiligung an der Geruchswahrnehmung zugeschrieben (Green 1964). Es wird allenfalls eine nur indirekte Funktion bei der Olfaktion, wie auch bei anderen Sinneswahrnehmungen, durch eine emotional-affektive Tönung angenommen (Seiferle 1975); die Gesamtheit aller physiologischen Funktionen ist weiterhin unbekannt (Niki 1962). Der Hippocampus ist durch Verbindungen mit dem Retikularsystem und dem Hypothalamus an der Schlaf- und Wachregulation beteiligt (Seiferle 1975). Über efferente Fasern zum Hypothalamus soll sich der Hippocampus auch an der Steuerung des Stoffwechsels, an der Thermoregulation (Kim 1960) und am Sexualverhalten beteiligen (Niki 1962). Weitere wichtige Funktionen sind die Steuerung des Individualverhaltens und des Gedächtnisses: Motivation, Spontantrieb, Lernvermögen, Erinnerung, Lust oder Unlust.

Aufgrund seiner großen Reaktionsbereitschaft gegenüber sensorischen Reizen bzw. seiner niedrigen Reizschwelle bei Mensch und Tier spielt der Hippocampus als Fokus von spontanen Entladungen neuronaler Zellverbände bei der Pathogenese der Anfallskrankheiten eine zentrale Rolle. Green (1964) wies im Zusammenhang mit den Anfallsleiden auf die Problematik der Abgrenzung von physiologischen zu pathologischen Prozessen hin. So zeigen zum Beispiel u. a. Kaninchen, das Oppossum und auch die Mongolische Wüstenrennmaus in Gegenwart eines Feindes eine Art Totenstarre, die von einer paroxysmalen Entladungsaktivität hippocampaler Nervenzellen begleitet ist, wie sie auch bei der Epilepsie beschrieben wird.

4.2.2 Ursachen des postischämischen Körpergewichtsverlusts

Bei allen Gerbils war nach der Ischämie eine Gewichtsabnahme zu beobachten. Der Gewichtsverlauf moribunder Tiere unterschied sich bereits am 2. Tag nach der Ischämie signifikant von dem überlebender Tiere, bei moribunden Tieren korrelierte der Gewichtsverlust eng mit der Überlebensdauer ($r=0.84$). Die tägliche Bestimmung des Körpergewichts erlaubte eine zuverlässige Prognose für das Überleben des Einzeltieres. Moribunde Gerbils verloren innerhalb von 3-4 Tagen nach Ischämie bis zu einem Drittel ihrer Körpermasse. An diese Beobachtung schlossen sich 2 Fragestellungen an:

- (1) Was ist die Ursache für den Gewichtsverlust in der postischämischen Phase und
- (2) aus welchen Bestandteilen setzt sich dieser Verlust an Körpermasse zusammen ?

Zur Klärung dieser Fragen wurden Gewichtsbestimmungen an nicht-ischämischen Gerbils mit Futter- und/oder Wasserentzug durchgeführt, um die Bedeutung einer Aphagie und Adipsie für den Gewichtsverlust der Tiere mit Ischämie zu untersuchen. Dabei zeigte sich, daß moribunde Gerbils nach einer Ischämie signifikant mehr Gewicht verlieren als Tiere, die ohne Futter und Trinkwasser gehalten werden; d. h. daß eine eventuell durch Ischämie hervorgerufene Aphagie und Adipsie alleine als Erklärung nicht ausreicht. Messungen des Hämatokrits und der Plasmaosmolarität bei ischämischen und nicht-ischämischen Tieren sollten bei der Beantwortung der Frage helfen, in wieweit der Verlust an Körpermasse durch einen katabolischen Stoffwechsel oder durch Exsikose (erhöhte Diurese, vermehrte Transpiration) allein zu erklären ist.

4.2.2.1 Einfluß der Restriktion von Trinkwasser

Angaben über den physiologischen Trinkwasserbedarf erscheinen problematisch. Allgemein wird angenommen, daß Wüstennager in ihrer natürlichen Umgebung kein frisches Trinkwasser benötigen, sondern ausschließlich vom Feuchtigkeitsgehalt ihrer Nahrung und sukkulenten Pflanzen leben können (Reynierse 1970). Der Autor konnte zeigen, daß Gerbils unabhängig von der Art des Futters im Mittel 48.5 Tage, in Einzelfällen bis zu 65 Tagen ohne Trinkwasser überlebten. Winkelman (1962) stellte in Fütterungsversuchen fest, daß der Gewichtsverlust von Gerbils mit 14% bei trinkwasserloser Haltung nach 29 Tagen gegenüber dem Kontrollgewicht ein stabiles Niveau erreicht hatte. Trotzdem bevorzugen Wüstennager in Gefangenschaft frisches Wasser, wobei einige Nagerspezies sogar einen übermäßigen Wasserkonsum zeigen, ein Umstand, der auf den Stress der Gefangenschaft zurückgeführt wird (Hudson 1964).

Dunstone (1971) führte Fütterungsversuche mit variierender Restriktion von Futter und/oder Wasser durch. Bei vollständigem Wasserentzug hatten die Tiere nach 4 Tagen im Mittel 14.9%, am Ende der Versuchsphase nach 12 Tagen 31.4% des Körpergewichts

verloren.

4.2.2.2 Einfluß der Restriktion von Futter bzw. Futter und Wasser

In den oben beschriebenen Versuchen von Dunstone betrug der mittlere Gewichtsverlust nach 4 Tagen Futterentzug 18,9%, nach 12 Tagen 40% des Kontrollgewichtes. Dabei starben während des Versuchszeitraumes 5 von 12 Tieren. Wurden die Tiere ohne jeden Zugang zu Futter und Wasser gehalten, betrugen die Gewichtsverluste 19,2% bzw. 41,0%. Die beiden Gruppen unterschieden sich nicht voneinander, wohl aber von der Gruppe ohne Wasser. Für den wichtigen Einfluß des Futterentzuges auf die Mortalität gegenüber anderen Versuchsgruppen gibt es mehrere Erklärungen.

Es ist bekannt, daß Gerbils, ähnlich anderen Wüstenbewohnern wie z. B. Dromedaren, das aus der Oxidation in der Atmungskette gewonnene Wasser nutzen können. McManus errechnete bei einem Trinkwasserbedarf von 9,6% KGW/Tag und einem Verzehr von ca 8g Trockenfutter (entspricht 3,7% KGW) eine Gesamtwasseraufnahme von 13,4% des Körpergewichts/Tier und Tag (McManus 1972). Zusätzlich scheinen die Nieren in der Lage zu sein, große Mengen Salz auszuschcheiden. Die Gewichtsverluste der Tiere waren kleiner, wenn man ihnen eine 1,25 M NaCl-Lösung als gar kein Wasser anbot. Bestimmungen der Harnstoffkonzentration (3,41 mol/l Urin) bzw. von Elektrolyten (1360 meq. NaCl/l Urin) bei einer verwandten Gerbilart (*Gerbillus gerbillus*) geben einen Eindruck von der Konzentrationsfähigkeit der Niere dieser Spezies (McManus 1972).

Die Interaktion von Hunger und Durst ist bei dieser Spezies, auch im Vergleich zu anderen Säugern, gut untersucht.

Während mehrere Spezies, z.B. Hunde, Ratten, Tauben, bei Futterentzug mit einer reduzierten Wasseraufnahme reagieren, führt dies bei Hamstern nach initialer Adipsie, bei Kaninchen und Gerbils sofort zu vermehrtem Trinken (Reynierse 1970, Vander Weele 1971). Bei Wasserentzug hingegen reagieren Gerbils ähnlich anderen Tieren mit einer wenn auch vergleichsweise geringeren Futteraufnahme. Die Tiere können über das Futter einen hohen Prozentsatzes ihres Wasserbedarfes decken. Es besteht somit bei diesem Wüstennager eine asymmetrische Beziehung zwischen Hunger und Durst (Reynierse 1970).

Ein Grund für die erhöhte Mortalität bei der Versuchsgruppe ohne Futter kann in einem nagerspezifischen Zusammenhang gesehen werden. Große Teile des Dickdarms, vor allem das Coecum, dienen als "Gärkammern" den Tieren zur Aufschlüsselung der Rohfaserbestandteile der Nahrung. Bei einem plötzlichen Sistieren der Nahrungsaufnahme kann es, ähnlich wie bei einer therapeutischen Gabe von Penicillin, zu einer massi-

ven Störung der natürlichen Darmflora mit dem selektiven Wachstum von Anaerobiern kommen. Dies kann neben gasigen Auftreibungen von Magen und Darm auch zu Enterotoxikose und -toxämie mit Todesfolge führen.

Befunde der eigenen Versuche können die oben beschriebenen Ergebnisse nur teilweise bestätigen. Tiere ohne Wasser waren von der Gruppe ohne Wasser und ohne Futter statistisch nicht verschieden und verloren tendenziell mehr Gewicht als Tiere mit reinem Futterentzug. Wasserentzug alleine hatte den größten Einfluß auf den Flüssigkeitshaushalt der Tiere. Der Anstieg des Hämatokrits war nach 4 Tagen bei dieser Gruppe um 3% größer als bei kombiniertem Futter- und Wasserentzug (i. e. 2%) und gegenüber den Tieren ohne Futter mehr als doppelt so hoch. Die Plasmaosmolarität stieg bei allen Gruppen gleichförmig um 20-25 mOsmol/l. Da in dieser Versuchsphase keine Verbrauchsbestimmungen von Futter und Wasser durchgeführt wurden, lassen sich mögliche Interaktionen zwischen Durst und Hunger nur unsicher beurteilen.

Es ist denkbar, daß durch gleichzeitigen Futter- und Wasserentzug der Hungerstoffwechsel mit Verbrennung endogener Protein- und Fettreserven schneller initiiert wird, als bei Tieren, die ohne Trinkwasser nur einen niedrigeren Futterverzehr zeigen. Der kombinierte Futter- und Wasserentzug kann sowohl zu einer verringerten Ausscheidung harnpflichtiger Substanzen und zum geringeren Verbrauch von Körperflüssigkeit als auch zu einer erhöhten, endogenen Wasserproduktion durch Verbrennung der Fettdepots führen. Beobachtungen von Winkelmann (1962), daß sich das Gewicht bei Wasserentzug nach 29 Tagen stabilisiert, somit eine gewisse Zeit für die Umstellung auf diese metabolische Situation notwendig ist, unterstreichen diese Hypothese.

Der leichte Anstieg des Hämatokrits bei Tieren mit Futterrestriktion läßt sich durch eine initiale Adipsie erklären, die Van der Weele (1971) bei Gerbils nach 40 bzw. 100% Futterentzug beobachtete. Nur im Falle des vollständigen Nahrungsentzuges folgte innerhalb von 3-5 Tagen eine Polydipsie, die während des gesamten Zeitraums der Restriktion anhält.

Es ist deshalb möglich, daß sich bei längerer Beobachtungszeit, nach Umstellung des Körpers auf diese katabole Gesamtsituation, das Verhältnis des Einflusses von Futter- oder Wasserentzug umkehrt.

4.2.3 Ischämie-induzierte Einflüsse

Bei allen Tieren mit Ischämie war am 1. Tag nach der Operation ein signifikanter

Verlust des Körpergewichtes zu beobachten. Entsprechend dem späterem Schicksal verloren die Tiere in Einzelfällen zwischen 6 und 18% der Körpermasse. Überlebende Tiere hatten nach 15min Ischämie mit ca. 11% des präischämischen Kontrollgewichtes tendenziell niedrigere Verluste als moribunde Tiere mit über 13%. Wie die Futterprotokolle zeigen, induzierte die Ischämie bei allen Tieren am ersten postischämischen Tag eine komplette Aphagie und fast vollständige Adipsie. Die Gewichtsverluste am ersten Tag von nicht-ischämischen Tieren unter völliger Futter- und Wasserrestriktion betrugen nur maximal 9% des Körpergewichtes.

Die am 2. Tag eintretende Stagnation des Gewichtsverlustes und die folgende langsame Erholung des Gewichtes der überlebenden Tiere läßt sich mit der Wiederaufnahme von Freß- und Trinkaktivität erklären. Demnach blieb das mittlere Körpergewicht, trotz Normalisierung des Futter- und Wasserverbrauchs um den 4.-5. Tag, bis nach einer Woche um ca 8% unter dem präischämischen Körpergewicht. Dies spricht für die Annahme, daß dem initialen Verlust an Körpermasse nicht ausschließlich ein Flüssigkeitsverlust zugrunde liegt, sondern auch ein Verlust von körpereigenem Gewebe, vornehmlich Fett, das zur Produktion von "endogenem Wasser" metabolisiert wurde. Die initiale Rehydratation nach Exsikkose kann bei Gerbils innerhalb von 24h bis zu 20% des Körpergewichtes betragen (McManus 1972).

Unklar bleibt die Ursache des "Wastings" der moribunden Tiere. Bereits innerhalb von 4 Tagen erlitten die Tiere einen Gewichtsverlust von im Mittel 30% mit Einzelwerten bis zu 36%. Dunstone (1971) registrierte entsprechende Abnahmen an nicht-ischämischen Gerbils erst nach 9 Tagen ohne Futter und Wasser. Auffallend ist vor allem der Verlust an Körpermasse in den ersten 2 Tagen nach Ischämie. Wie ein Einzelbefund zeigte (s. Abb 16), ließen sich merkliche Gewichtsverluste bereits 3-4 Stunden nach Reperfusionbeginn in 30-minütigen Meßintervallen nachweisen. Die Verlustraten näherten sich erst in den darauffolgenden Tagen denjenigen Werten an, die bei nicht-ischämischen Tieren bei vollständiger Nahrungs- und Wasserrestriktion gefunden wurden.

Als mögliche ursächliche Co-Faktoren können u.a. angeführt werden:

4.2.3.1 Systemische Veränderungen des Stoffwechsels nach einer zerebralen Ischämie

Es ist seit langem bekannt, daß Belastungen durch Verletzung oder Krankheit zu Veränderungen des Grundumsatzes führen. Patienten mit Kopfverletzungen haben einen erhöhten Proteinkatabolismus und eine erniedrigte Anabolie sowie eine erhöhte Stickstoffexkretion in den Urin. Bei Patienten mit zusätzlichen neurochirurgischen Eingrif-

fen war dieses Phänomen stärker ausgeprägt (Kaufman 1987, Haider 1975). Mehrere Arbeitsgruppen haben hypermetabolische und Protein-katabolische Veränderungen bei Patienten mit Schädel-Hirnverletzungen bestätigt (s. Kaufman 1987). Es konnte gezeigt werden, daß Kopfverletzungen zu einer Stimulation des Endokriniums und des autonomen Nervensystem führen mit Anstieg der Katecholamin- und Cortisolspiegel mit ihren Folgeerscheinungen (Gadisseux 1984).

Wexler (1972) untersuchte bei Gerbils Veränderungen von Triglyceriden, freien Fettsäuren, Cholesterol, Cortisol und von Glucose im Blut in den ersten 48h nach einseitiger Karotisligatur. Vorausgehende Untersuchungen von Ratten mit einseitiger (Wexler 1970a) und beidseitiger Karotisokklusion (Wexler 1970b) zeigten, daß die bilaterale Okklusion noch stärkere Veränderungen als der einseitige Verschuß hervorruft.

Die auffälligste Organveränderung nach Karotisligatur neben der des Gehirns war eine massive Leberzellverfettung vom panazinären Typ. Sie ließ sich bereits 4h nach Okklusion nachweisen. Die Veränderung waren jedoch vorübergehender Natur. Nach 24 bzw. 48h waren sie nur noch diskret nachweisbar. Die Nebennierenrinde zeigte in der Zona reticularis eine zunehmende Lipidverarmung, die anschließend auf die Zona fasciculata übergriff. Nach 2h war ein Anstieg der Triglyceridspiegels zu beobachten, der während des gesamten Experimentes erhöht blieb. Ungewöhnlich hoch und rasch waren die Anstiege der freien Fettsäuren und von Cholesterin. Der Blutzuckerspiegel stieg nach 6 Stunden auf Werte von 400 mg% an und fiel erst nach 48 Stunden auf den Ausgangswert zurück. Eine mögliche Ursache dafür ist in der Veränderung des Plasmacortisolspiegels zu sehen. Zwischen 2-12 Stunden nach der Ligatur kam es zu einem ungewöhnlich hohen Anstieg. Dies führte zu einer intensiven Fettmobilisation. Durch den erhöhten Lipidspiegel im Blut kommt es zur Überlastung des Fettstoffwechsel der Hepatozyten und damit zur Leberzellverfettung.

Die Hyperglykämie ist ebenfalls auf den glukoneogenetischen Effekt von Cortisol zurückzuführen. Glucocorticoide aktivieren darüberhinaus den zerebralen Stoffwechsel (Bachmann 1982). Anschließend fällt die Steroidkonzentration im Plasma rasch ab. Als Ausdruck einer Erschöpfung der Nebennierenrinde - entsprechend dem morphologischen Bild der Lipidverarmung - bleiben die Cortisol-Spiegel im subnormalen Bereich. Die beschriebenen pathophysiologischen Veränderungen treten bei Gerbils viel eher als bei Ratten auf (Wexler 1972).

4.2.3.2 Störungen des Flüssigkeitshaushaltes

Wexler (1972) beobachtete in den ersten 48h nach einseitigem Karotisverschuß beim

Gerbil steigende Harnstoffkonzentrationen im Serum, was er als Anzeichen eines beginnenden akuten Nierenversagens deutete. Nach einer initialen Oligurie kommt es zu einer polyurischen Phase im Sinne eines nephrogenen Diabetes insipidus.

Beeinträchtigungen des Hypothalamus-Hypophysensystems, wie sie nach Schädel-Hirn-Trauma, nach zerebraler Ischämie oder Tumoren entweder direkt oder durch ein Hirn-ödem entstehen, können zu einem zentralen Diabetes insipidus führen. Die Beurteilung eines solchen Krankheitsbildes bereitet jedoch beim Gerbil aufgrund der geringen, täglichen Urinmengen große Schwierigkeiten. Innerhalb von 4 Tagen nach Ischämie kam es bei moribunden Tieren zu einem Anstieg des Hämatokrits um ca. 6.5%, bei nicht-ischämischen Gerbils ohne Futter und Wasser erhöht sich der Hämatokrit um 2%. Die drastische Gewichtsabnahme moribunder Tiere mit Verlust von über 30% der Körpermasse innerhalb von 4 Tagen läßt sich somit nicht alleine durch eine Dehydratation erklären. Der mittlere Hämatokrit dieser Gruppe am 4. Tag nach der Ischämie lag mit 54% nur wenig über der physiologischen Norm von 43-50% (Ruhren 1965). Störungen der Flüssigkeitshomöostase mit Verlusten von mehr als ein Drittel des Ursprungsgewichtes ließen weitaus höhere Anstiege erwarten. Darüberhinaus überlebten die betroffenen Tiere unter diesen Umständen weitere 2-5 Tage mit Gewichtsverlusten bis zu 42% des Körpergewichts.

Bei Haussäugetieren stellen Flüssigkeitsverluste von 10-15% des Körpergewichts bereits einen lebensbedrohlichen Zustand dar. In wieweit besondere Anpassungsmechanismen des Gerbils an einen ariden Lebensraum mit erhöhter Toleranz und besserer Kompensation von Flüssigkeitsverlusten bei den Gewichtsverlusten nach zerebraler Ischämie eine Rolle spielt ist ungeklärt. Gerbils tolerieren einen Gewichtsverlust bis zu 48% des Körpergewichts (McManus 1972). Das ist die höchste Verlustrate, die für Säugetiere bekannt ist.

4.2.3.3 Zentral bedingte Störungen der Nahrungsaufnahme

Aufgrund der oben beschriebenen Beteiligung des Hippocampus an Stoffwechselfunktionen, der Thermoregulation, der Motivation zur Arterhaltung - also an allgemeinen vitalen Steuerfunktionen - erscheint die Frage interessant, in wieweit die Schädigung des Hippocampus Einfluß auf Nahrungsaufnahme und damit auch auf die Entwicklung des Körpergewichtes hat. Ergebnisse in der Literatur sind rar und oft widersprüchlich. Versuche zur Klärung der Bedeutung des Hippocampus für die Nahrungsaufnahme wurden an verschiedenen Spezies, meistens jedoch Ratten, durchgeführt. Aufgrund der unterschiedlichen Interaktionen von Futter und Wasseraufnahme bei Gerbils und Ratten erscheint eine vergleichende Betrachtung problematisch. Kimble (1966)

fand bei Ratten mit bilateraler Hippocampusläsion eine signifikante Erhöhung der Wasseraufnahme gegenüber Tieren mit corticaler Läsion oder scheinoperierten Tieren, während die Nahrungsaufnahme unbeeinflusst blieb. Niki (1962) beobachtete ebenfalls keine Veränderung der Nahrungsaufnahme bei hippocamepektomierten Ratten. Eine Hippocamepektomie blieb bei Ratten ohne Auswirkung auf den Grundumsatz, obwohl man weiß, daß der Hippocampus über Efferenzen zum Hypothalamus an Stoffwechselregulationen beteiligt ist (Kim 1960). Versuche mit hippocamepektomierten Gerbils zeigten ebenfalls eine erhöhte Wasseraufnahme (Glickman 1970). Dem sympathoadrenergen Nervensystem wird eine Schlüsselrolle in der Regulation von Hunger und Durst zugesprochen. Die selektive Zerstörung dopaminerger, nigrostriataler Bahnen führt zur Aphagie und Adipsie. Veränderungen katecholaminerger Transmittersubstanzen im Hypothalamus und Hippocampus während der Nahrungsaufnahme nach Futterentzug geben Hinweise auf die Funktion und Modulation durch beide Areale (Kadar 1984). Die bilaterale selektive Zerstörung des Nucleus basalis magnocellularis führte bei Ratten zu einer 7-10-tägigen Aphagie und Adipsie mit großen Körpergewichtsverlusten (Lo Conte 1982; Dubois 1985). Dieses Syndrom war jedoch reversibel. Die Ratten zeigten aber bei Aufnahme normaler Futtermengen ein gestörtes Freßverhalten. Coggeshall (1958) beobachtete bei einer selektiven Zerstörung der Sektoren CA3 und 4 im Hippocampus bei Mäusen Gewichtsverluste.

Die Bestimmung der Nervenzellichte in den einzelnen Sektoren des Hippocampus zeigte vor allem in den Sektoren CA2 und 3 hochsignifikante Unterschiede zwischen den überlebenden (62.7 bzw. 72.% der Kontrollen) und moribunden Tieren (14.8 % bzw. 20.3%) in der Anzahl erhaltener Nervenzellen.

Abb. 60 zeigt eine Beziehung von Tieren mit konventioneller Käfighaltung zwischen der Nervenzellzahl in den Sektoren CA2 und 3 und dem postischämischen Körpergewicht am 4. Tag nach 15min Ischämie. Die Anzahl der Nervenzellen wurde als prozentualer Anteil der bei scheinoperierten Tieren ermittelten Neuronendichte dargestellt. Tiere mit einem stärkeren Verlust von Nervenzellen in beiden Sektoren hatten auch einen höheren Gewichtsverlust. Da nur ein geringer Anteil der moribunden Tiere für die histologische Auswertung verwendet werden konnte, ist eine Aussage über den Grad der Korrelation zwischen Gewichtsverlust und dem Untergang von Nervenzellen jedoch nur mit Vorbehalt zu machen. Dennoch, die enge Korrelation zwischen Körpergewichtsverlust und Überlebensdauer einerseits (s. Abb. 22) bzw. der Anzahl erhaltener Neuronen bei moribunden Tieren (s. Abb. 61) andererseits, bekräftigen den in Abb. 60 dargestellten Zusammenhang. Der Korrelationskoeffizient $r=0.63$ der Regressionsgerade $y=77.2+0.17x$ ist hochsignifikant ($p < 0.001$).

Die signifikante Korrelation läßt darüberhinaus einen Zusammenhang zwischen dem Ausmaß des Nervenzelluntergangs in den Sektoren CA2 und 3 und dem Todeszeitpunkt

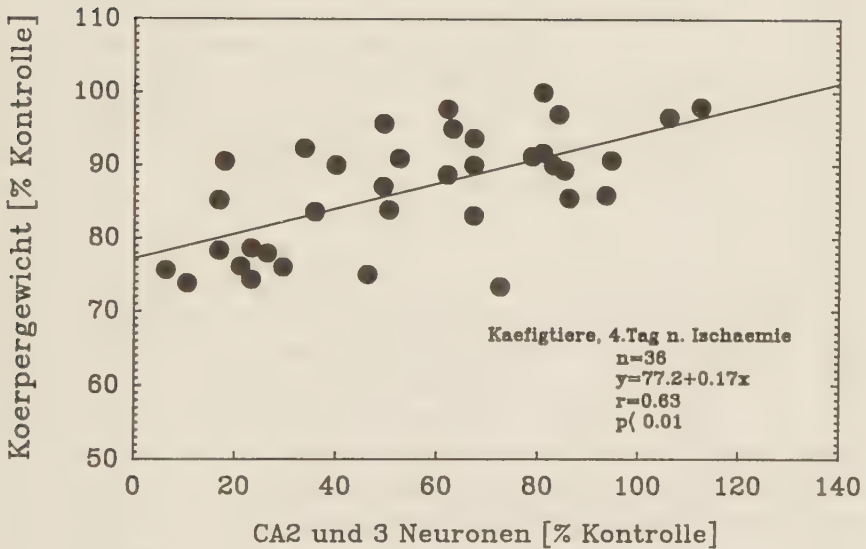


Abbildung 60:

Korrelation zwischen dem relativen Anteil von Neuronen in den Sektoren CA2 und 3 in % des Kontrollwertes nicht-ischämischer Tiere ($n=7$) und dem Körpergewicht in % des präischämischen Kontrollgewichts von überlebenden und moribunden Käfigtieren nach 15min Ischämie. Bei 2 Tieren war die Nervenzellichte in beiden Sektoren selbst nach Ischämie höher als der bei nicht-ischämischen Tieren ($n=7$) errechnete mittlere Kontrollwert. Es besteht eine signifikante Beziehung zwischen dem Ausmaß des Nervenzelluntergangs und dem Körpergewicht am 4.Tag der Reperfusion.

vermuten.

In Abb. 61 ist die Anzahl der verbliebenen Nervenzellen in den Sektoren CA2 und 3 in Prozent der von Kontrolltieren gegen den Todeszeitpunkt aufgetragen. Von Tieren mit gleicher Überlebensdauer wurde die mittlere prozentuale Anzahl von Neuronen dargestellt. Der Korrelationskoeffizient $r = 0.985$ der Regressionsgerade $y = 0.014 + 1.97x$ ist signifikant ($P < 0.05$). Der hier analysierte statistische Zusammenhang spricht für eine kausale Bedeutung des Nervenzelluntergangs im CA2/3-Sektor für die Überlebenszeit der Tiere nach Ischämie. Wie in den Abb. 60 und 61 dargestellt ist, lassen sich somit aus der Gewichtsentwicklung nach Ischämie frühzeitige Aussagen zu Überlebensdauer wie Schädigung des Hippocampus machen.

Das präischämische Körpergewicht hat für die Gewichtsentwicklung nach Ischämie oder für das Erreichen einer kritischen Gewichtsgrenze keine große Bedeutung. Dies zeigen die Ischämieversuche der Gruppen mit ein- oder viertägigem Futter- und Wasserezug vor Ischämie. Es wäre zu erwarten gewesen, daß ein großer Teil von Tieren nach 4-tägigem Fasten mit 80% des Körpergewichts zum Zeitpunkt der Ischämie, innerhalb von 1-2 Tagen nach Ischämie in einen Bereich von $< 65\%$ des Ausgangsgewichts gelangt wäre, der bei den Kontrolltieren ohne Fasten tödlich war.

Die Mortalitätsrate aber war mit 50% unverändert gegenüber der der anderen Versuchsgruppen. Immerhin war das Überleben der Einzeltiere auch an die postischämische Gewichtsentwicklung gekoppelt. Alle moribunden Tiere starben in einem Zeitraum von 4-9 Tagen nach Ischämie. Die täglichen Gewichtsabnahmen waren sogar geringer oder das Gewicht zum Zeitpunkt des Todes war mit 59-54% des Kontrollgewichts kaum niedriger.

Die überlebenden Tiere zeigten am ersten Tag wieder Freßaktivität und erreichten sowohl ihr präischämisches Fasten- als auch ihr ursprüngliches Kontrollgewicht signifikant schneller als normale Versuchsgruppen oder Tiere mit 24h-Fasten. Dabei könnte eine bereits präischämisch erfolgte Umstellung auf Fastenmetabolismus einen positiven Effekt auf die Ischämie-induzierten Veränderungen der Stoffwechselregulation zu haben. 5 Tage Fasten senkt bei Ratten den Grundumsatz um 26% (Ma 1986). Dies soll einhergehen vor allem mit einer Verminderung der Splanchnikusdurchblutung und der der hinteren Extremitäten.

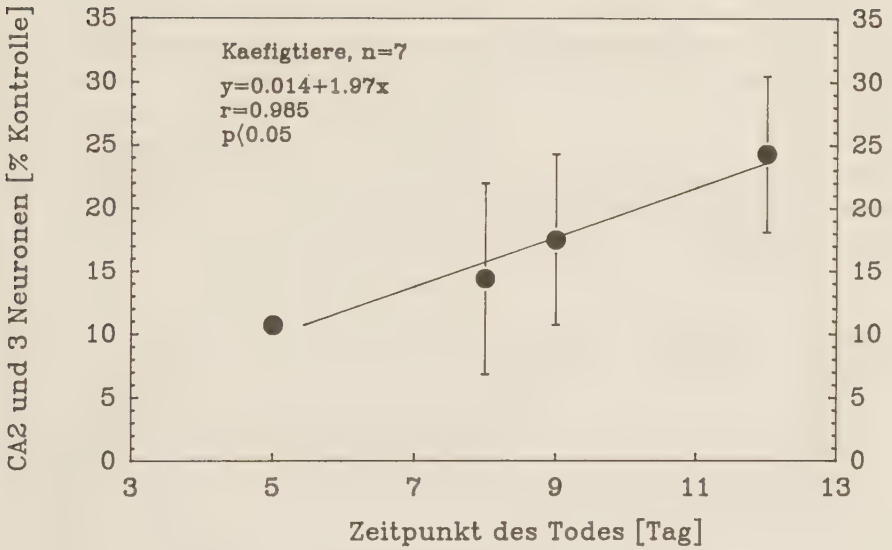


Abbildung 61:

Korrelation zwischen der mittleren Anzahl von Neuronen im CA2 und 3-Sektor in % des Kontrollwertes nicht-ischämischer Tiere und dem Zeitpunkt des Todes von moribunden Käfigtieren. Der Grad des Nervenzelluntergangs steht in direkter Beziehung zur Überlebensdauer moribunder Tiere.

4.3 ISCHÄMIEBEDINGTE VERÄNDERUNGEN DER SPONTANAKTIVITÄT

Die Bewertung der motorischen Spontanaktivität eines Tieres hat in den verschiedenen Ischämie modellen z.B. für die Schwere des Insultes, die Bewertung der Rekonvaleszenz, von Verhaltensänderungen oder als Indikator endogener Vorgänge bisher wenig Anwendung gefunden. Dabei ist körperliche Bewegung für ein Tier ein spezifisches Wesensmerkmal, dem auch bei der Tierhaltung Rechnung getragen werden muß. Für die Bewertung von motorischer Aktivität werden Tiere u.a. auf bestimmte Meßflächen gebracht ("open field test"), auf Rollen gesetzt oder mit Labyrinthen konfrontiert. Sie werden dabei aus ihrer vertrauten Umgebung genommen und oft durch die erforderlichen Manipulationen gestreßt, zudem finden die Untersuchungen zumeist ohne Berücksichtigung des zirkadianen Rhythmus der häufig dämmerungs- oder nachtaktiven Tiere statt. Mit den hier verwendeten Laufradkäfigen, die eine langfristige, manipulationsarme Haltung mit kontinuierlicher Registrierung ermöglichen, konnten diese Probleme umgangen werden.

Zahlreiche Untersuchungen wurden mit diversen Nagerspezies über den Einfluß hippocampaler Läsionen auf die Spontanaktivität durchgeführt. Viele Experimentatoren messen Art und Intensität einer Exploration des Versuchstiers in Aktivitätskäfigen oder Labyrinthen. Beim Vergleich der Ergebnisse ist eine unterschiedliche Explorationsneigung, Neugier also, sowie Lernfähigkeit und Ausdauer dieser Aktivität der Spezies zu berücksichtigen (Glickman 1964). Während Hamster nach bilateraler Hippocampektomie ein unverändertes Verhalten zeigen (Jarrard, Bunnell 1968), wurde bei Ratten (Kim 1960; Kaada 1961; Roberts 1962; Niki 1962; Teitelbaum 1963; Kimble 1963; Douglas 1964; Leaton 1965; Jarrard, Bunnell 1968; Jarrard 1968; Stevens 1973) oder bei Gerbils (Glickman 1970) nach Hippocampusläsion in allen Fällen eine Hyperaktivität beobachtet. Als Ursache dieser Aktivitätssteigerung werden mehrere Faktoren diskutiert. Durch die Entfernung des Hippocampus könnte es zu einer Herabsetzung der Erregungsschwelle für verschiedene, auch umweltbedingte Stimuli kommen (Niki 1962). Auch eine Störung der Gedächtnisfunktion scheint eine wichtige Rolle zu spielen. Die Tiere erkennen bereits bekannte Dinge nicht und benötigen zur erneuten Gewöhnung ("Habituation") verstärkt anhaltende Explorationen (Leaton 1965). In einem ähnlichen Zusammenhang ist auch das Verhaltensmuster zu sehen, von dem Kimble (1963) berichtet. Ratten mit Hippocampus-Läsionen zeigen im Gegensatz zu Kontrolltieren ein sich ständig wiederholendes Laufmuster, ein Verhalten, das als Perseveration bezeichnet wird. Beim Vergleich der prä- und postischämischen Laufmuster der Gerbils war zu beobachten, daß nicht die Laufgeschwindigkeit Ursache der Aktivitätssteigerung war, sondern daß die einzelnen Laufperioden wesentlich länger dauerten, was zu einer

Veränderung des zirkadianen Rhythmus und zur Verschiebung der Schlaf-Wachphasen führte.

Zirkadiane Veränderungen sind auch bekannt nach Läsionen der *Formatio reticularis* (Lindsley 1950). Eine bilaterale Hippocampektomie bei Affen unterbricht den normalen zirkadianen Rhythmus der Sekretion von 17-Hydroxycorticosteron; es fehlt auch der im Urin meßbaren Konzentrationsabfall während der Nacht (Mason 1958). Auch bei Ratten und Gerbils führte eine Schädigung des Hippocampus näherungsweise zur Umkehr des Wach-Schlafverhältnis und zu einer erhöhten Gesamtaktivität (Jarrard 1968; Glickman 1970). Die Zerstörung des Hippocampus entkoppelt negative Feed-back-Mechanismen und hebt damit inhibierende Funktionen auf untergeordnete aktivierende Zentren wie *Formatio reticularis* auf.

Die Aktivitätsmessungen in den Laufkäfigen in Verbindung mit der Quantifizierung der Hippocampusschädigung bestätigen diese Theorie. Wird die postischämische Aktivität des Einzeltieres in Beziehung zur Anzahl der erhaltenen Nervenzellen in den Sektoren CA2 und 3 gebracht, zeigt sich, daß Tiere mit relativ hohem Verlust von Nervenzellen eine höhere Aktivitätssteigerung hatten als Tiere mit geringerem Schaden ($r = 0.71$, $p < 0.001$ Abb. 62). Mit wachsendem Anteil geschädigter Zellen sinkt also der inhibitorische Einfluß des Hippocampus auf die motorisch-aktivierenden Zentren. Hingegen hatten ischämische Gerbils mit weitgehend erhaltenem Hippocampus ähnlich scheinoperierten Tieren eine postoperative Aktivitätsdepression. In Abb. 62 ist die Beziehung zwischen der Veränderung der Laufaktivität, bezogen auf das präischämische Kontrollniveau, und der Anzahl von erhaltenen Nervenzellen in den Sektoren CA2 und 3 dargestellt. Die Regression läßt zwei Beziehungen vermuten:

- (1) Zumindest besteht eine direkte Korrelation zwischen dem Grad des Nervenzelluntergangs und der Aktivitätssteigerung nach einer zerebralen Ischämie.
- (2) Nach Überschreiten eines gewissen Schädigungsgrades der beiden Sektoren kommt es jedoch zu einer starken Reduzierung der Spontanaktivität. Diese Hypothese stützt sich jedoch bisher nur auf einen Einzelbefund.

4.4 ISCHÄMIEBEDINGTE VERÄNDERUNGEN DES HIPPOCAMPUS

4.4.1 Geschichtlicher Hintergrund

In neuropathologischen Untersuchungen epileptischer Patienten fand Sommer (Sommer 1880) bei einem Drittel der Fälle in umschriebenen Bereichen des Hippocampus einen ausgedehnten Verlust von Nervenzellen. Er vermutete, daß wiederholte ischämische Perioden für eine zirkumskripte Narbenbildung, als Ammonshorn-Sklerose

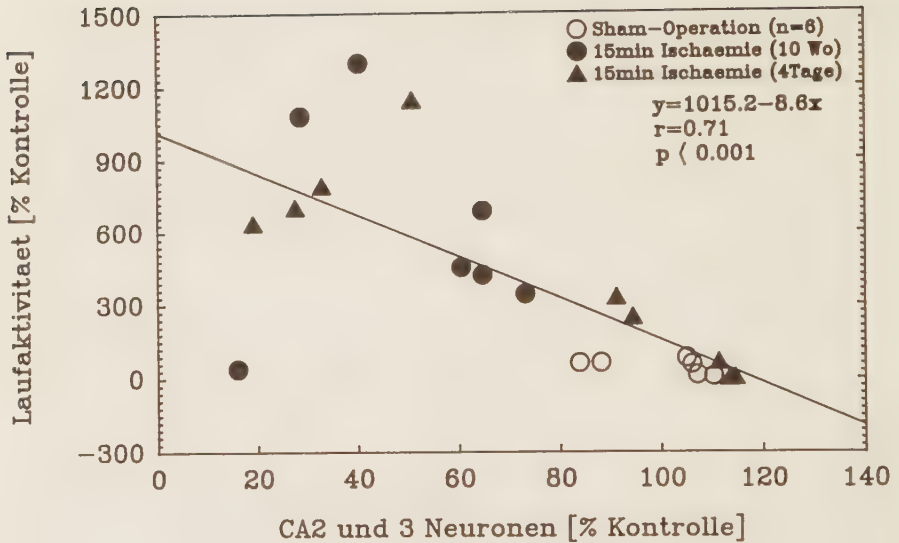


Abbildung 62:

Korrelation zwischen der Anzahl von Neuronen im CA2 und 3-Sektor in % des Kontrollwertes nicht-ischämischer Tiere und der Aktivitätsänderung am 3.Tag nach einer 15min Ischämie. Die Versuchsgruppen mit einer Perfusionsfixation nach 4 Tagen (n=9) und 10 Wochen (n=7) Überlebensdauer sind getrennt dargestellt.

bezeichnet, verantwortlich seien, die ihrerseits Krampfanfälle zur Folge haben. Pfleger (1880) dagegen postulierte eine umgekehrte Kausalitätskette: er sah die epileptischen Anfälle als Ursache für die Ischämie, die dann zu typischen, sklerotischen Veränderungen führt. Bratz (1899) fand neben diesen Veränderungen im CA1-Sektor, dem "Somerschen Sektor", ähnliche Veränderungen im CA4-Sektor des Hippocampus.

Die unterschiedliche Empfindlichkeit einzelner Nervenzellverbände gegenüber ischämischen Insulten wird als "selektive Vulnerabilität" (Brierley 1976) bezeichnet. Hierzu gehören jedoch auch Infarkte in den Grenzzonen arterieller Versorgungsbereiche. Die Beantwortung der Frage, warum bestimmte Nervenzellverbände nach unterschiedlichen Insulten, wie z.B. nach Herzstillstand, Status epilepticus oder systemischer Hypoglykämie, zerstört werden, während andere Bereiche überleben, steht noch immer aus, obwohl das Problem seit über einhundert Jahren Gegenstand zahlreicher Untersuchungen ist (Collins 1986).

Grundsätzlich haben sich 2 verschiedene Ansätze für die ätiologische Klärung der selektiven Vulnerabilität herauskristallisiert.

- (1) In Veränderungen des den Hippocampus versorgenden Gefäßbettes sah Spielmeier (1925) die primäre Ursache für den Untergang von Nervenzellen in dieser Region. Dies führte zur Formulierung einer "vaskulären Theorie". Quantitative Untersuchungen post mortem zeigten, daß die Kapillardichte (Pfeiffer 1940) des Hippocampus geringer als die in anderen Hirnstrukturen ist. Imdahl (1986) fand darüberhinaus in Intravital-Untersuchungen von Gerbils eine unterschiedliche Kapillardichte und Durchblutung in den einzelnen Sektoren des Hippocampus. Bereits unter Kontrollbedingungen war die Anzahl perfundierter Kapillaren im CA1-Sektor um 20% geringer als im CA3-Sektor oder Cortex. Nach einer 5min Forebrain-Ischämie stieg in der frühen Reperusionsphase die Anzahl der perfundierten Kapillaren im Cortex wieder an, während im CA1-, in geringerem Maße auch im CA3-Sektor, die Kapillarperfusion verringert blieb. Noch nach 7 Tagen war die perfundierte Kapillardichte im CA1-Sektor unter 30%, während im Cortex und CA3-Sektor normale Werte gefunden wurden. Die langfristige Beeinflussung der Mikrozirkulation nach kurzen ischämischen Perioden soll daher ein primärer Faktor für die Entstehung der histologischen Läsion sein.
- (2) Vogt (1925) hingegen vermutete eher eine erhöhte Empfindlichkeit einzelner Neuronenverbände aufgrund besonderer morphologischer oder biochemischer Eigenschaften der Nervenzellen, was er als "Pathoklise" umschrieb. Bemühungen zur Aufklärung der selektiven Vulnerabilität konzentrierten sich in

der Folgezeit vor allem auf eine gestörte Energetik als primäre Ursache. Mehrere Untersuchungen der letzten zehn Jahren konnten jedoch zeigen, daß Nervenzellschäden nach Krampfanfällen auftreten, obwohl der zerebrale Blutfluß erhalten und die Versorgung des Hirnparenchyms mit Sauerstoff und Glukose gewährleistet war (Collins 1970; Duffy 1975; Collins 1982; Ingvar 1984; Collins 1986). Auch im Modell der transienten zerebralen Ischämie bei Gerbils konnte Arai (1986) nachweisen, daß Nervenzelluntergänge im CA1-Sektor nicht mit postischämischen Störungen des Energiestoffwechsels in Verbindung gebracht werden können.

4.4.2 Exzitotoxine

Es ist seit langem bekannt, daß Glutamat nicht nur ein wichtiger Metabolit des Intermediärstoffwechsels ist, sondern auch als exzitatorische Transmittersubstanz unter physiologischen und pathophysiologischen Bedingungen eine bedeutende Rolle spielt. Die systemische Applikation von Glutamat führt bei neugeborenen Mäusen, Ratten und Affen, deren Blut-Hirnschranke noch nicht funktionstüchtig ist, zu Nekrosen im Gehirn und in der Retina (Olney 1969a und b; Olney 1971; Olney 1978). Durch iontophoretische Applikation von Glutamat in den Cortex von Ratten wurden morphologische Defekte erzeugt und Kenntnisse erhalten, daß die erforderliche toxische Glutamat-Schwellendosis bei 8mM liegt (Van Harreveld 1971). Die erste Identifikation eines Glutamatrezeptors gelang Michaelis (1979).

Die Beobachtung, daß ein anoxischer Zellschaden in Nervenzellkulturen durch Blockade der synaptischen Übertragung verhindert werden kann (Rothmann 1983), gab einen wichtigen Hinweis auf die zugrundeliegenden neurotoxischen Mechanismen von exzitatorischen Neurotransmitter. Zu diesem Zeitpunkt waren bereits mehrere Glutamat- oder Aspartat-analoge Substanzen mit exzitotoxischer Wirkung bekannt. Kainat ist enthalten in einem als Anthelminthikum verwendeten Algenextrakt. Weitere Substanzen sind Quisqualat, Homocysteinsäure und N-Methyl-D-Aspartat (NMDA). Untersuchungen mit Ratten konnten zeigen, daß wenige Minuten nach Beginn einer Ischämie ein beträchtlicher Konzentrationsanstieg von Glutamat und Aspartat im extrazellulären Raum des Gehirns stattfindet (Benveniste 1984). Darüberhinaus wird durch eine Forebrain-Ischämie die physiologische Wiederaufnahme von Glutamat in die Zelle gestört (Silverstein 1987). Die Blockade der glutamatergen NMDA-Rezeptoren durch intrahippocampale Infusion des spezifischen Antagonisten 2-Amino-7-Phosphonoheptansäure (APH) vor Induktion der Ischämie verhinderte den Untergang fast aller Zelltypen im Bereich der Mikroinfusion (Simon 1984). Die Gabe eines glutamatergen unspezifischen Antago-

nisten (Ketamin) nach einer Anoxie konnte in-vitro Nervenzellschäden verhindern (Lodge 1986). Olney wies für Neuroleptika, Analgetika und Sedativa anti-exzitotoxische Effekte durch Antagonisierung von NMDA im Modell der isolierten Kükenretina nach (Olney 1986).

4.4.3 Molekulare Mechanismen des exzitotoxischen Zellschadens

In Abbildung 63 sind die einzelnen Aspekte des exzitotoxischen Konzepts graphisch zusammenfassend dargestellt.

Eine neuronale Schädigung entsteht aus unterschiedlichen Prozessen:

(1) Akute osmotische Schädigung

Hohe Glutamatkonzentrationen an der postsynaptischen Membran aktivieren nicht-selektive Kationenkanäle mit nachfolgendem Na^+ -Einstrom in die Nervenzelle und K^+ -Ausstrom. Gleichzeitig kommt es zu einem passiven Einstrom von Cl^- und Wassermolekülen in die Zelle. Daraus resultiert eine osmotische Schwellung der Zelle (Mayer 1987). Wurden Na^+ - bzw. Cl^- -Ionen gegen nichtpermeable Ionen ausgetauscht, konnte in Versuchen mit Zellkulturen der neurotoxische Effekt der exzitatorischen Aminosäuren verhindert werden. Ca^{2+} -Ionen, die ebenfalls in die Zelle einströmen, scheinen in der frühen, osmotisch bedingten Phase der Exzitotoxizität nicht am Schädigungsmechanismus beteiligt zu sein (Rothman 1985). Die frühe Form der Zellschädigung mit Zellschwellung und Kalziumakkumulation scheint teilweise reversibel zu sein (Griffiths 1984; Simon 1984).

(2) Späte Schädigung ("Delayed neuronal death")

Die glutamaterge Aktivierung spezifischer, NMDA-Rezeptoren-abhängiger Ca^{2+} -Kanäle führt unabhängig vom Depolarisationsgrad der Membran zum Einstrom von Kalzium in die Zelle. Als "second messenger" initiiert Kalzium eine Reihe enzymatischer und metabolischer Prozesse. Die Stimulation von Proteasen, Phospholipasen und Lipasen steht dabei am Anfang einer Abfolge kataboler Prozesse, die schließlich zum Zelltod führen. Die essentielle Bedeutung von Kalzium konnte dabei sowohl in in-vitro (Choi 1985) als auch in-vivo bei der Katze (Hossmann 1983), der Ratte (Deshpande 1987) und dem Gerbil (Sakamoto 1986) erhärtet werden.

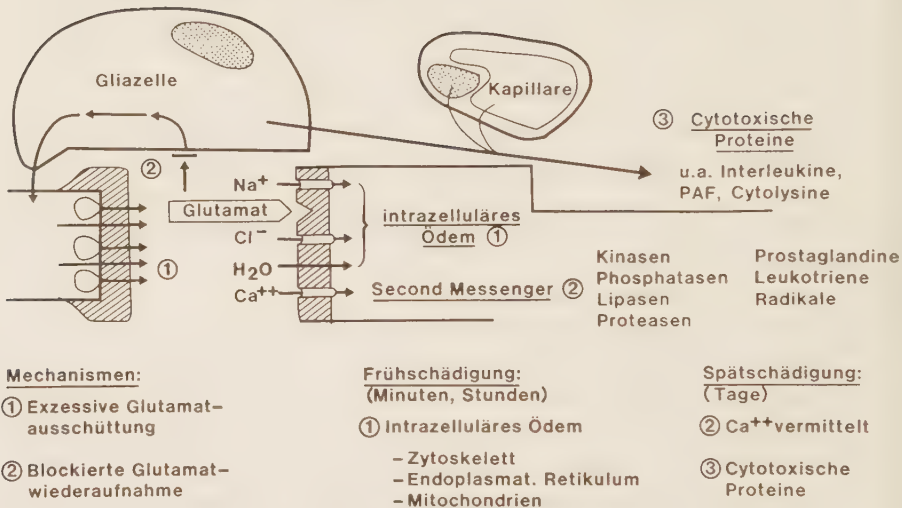


Abbildung 63:

Schematische Darstellung der Mechanismen und Phasen der exzitotoxischen Hypothese (nach Collins 1987). Präsynaptisch kommt es während einer anoxischen Phase zu einer exzessiven Freisetzung und verminderten Wiederaufnahme von Glutamat. Die glutaminerge Aktivierung nicht-selektiver Kationenkanäle führt nach Minuten bis Stunden zur Bildung eines intrazellulären Ödems mit Schwellung von verschiedenen Organellen.

Diese als Frühschädigung bezeichnete Phase ist wahrscheinlich reversibel. Der Einstrom von Calcium-Ionen durch spezifische, Rezeptor-aktivierte Kanäle in die Nervenzelle führt zur Aktivierung v.a. kataboler Enzyme und zytotoxischer Substanzen. Diese lichtmikroskopisch erst nach Tagen sichtbare Zellschädigung gilt als irreversibel. Als weitere schädigende Faktoren werden verschiedene zytotoxische Proteine, Peptide und Produkte des Arachidonsäurestoffwechsels diskutiert.

4.4.4 Selektive Vulnerabilität der einzelnen Hippocampus-Sektoren

4.4.4.1 CA1-Sektor

Die zellulären Veränderungen nach einer kurzen Ischämiephase betreffen vor allem die Pyramidenzellen des CA1-Sektors (Kirino 1982). Die Art dieser Zellschädigung, als "delayed neuronal death" bezeichnet, ist bei Gerbils (Kirino 1984a, b) und Ratten (McGee-Russell 1970; Levy 1975; Petito 1984) eingehend untersucht worden. Nach 5-10min Ischämie erscheinen die Neurone während der ersten 2 Tage fast unverändert (Kirino 1984a). Dennoch kommt es in der Frühphase der Reperfusion zur Inhibition der Proteinsynthese, die in den Neuronen des CA1-Sektors, im Gegensatz zu anderen Sektoren, irreversibel ist (Thilmann 1986). In den ersten 24h nach Ischämie wird eine Hyperaktivität der Pyramidenzellen gefunden (Suzuki 1983). 4 Tage nach Ischämie sind diese Nervenzellen bzw. der ganze Sektor zerstört. Nach 20-30min Ischämie treten Zellveränderungen früher auf, jedoch beginnen auch nach längerer Ischämiedauer erste Veränderungen frühestens 24-48h nach Ischämie sichtbar zu werden, so daß diese Art des Zelluntergangs klar von Frühschädigungen differenziert werden kann. Dem "delayed neuronal death" liegt vermutlich eine erhöhte Ausschüttung von exzitatorischen Aminosäuren, z.B. Glutamat, zugrunde. Die Pyramidenzellen dieses Sektors zeichnen sich durch eine außergewöhnlich hohe Dichte an NMDA-Rezeptor-abhängigen Ca^{2+} -Kanälen aus (Rothman 1987). Die glutamaterge Aktivierung dieser Kanäle führt zum Einstrom von Kalzium in die Neurone und vermutlich damit zum Untergang der Zellen (Choi 1985; Sakamoto 1986;). Die intrazelluläre Ca^{2+} -Akkumulation wird als finaler Mechanismus des Zelltodes angesehen (Schanne 1979). Genauere Zusammenhänge sind nicht endgültig geklärt, da auch unter physiologischen Bedingungen ein Einstrom von Ca^{2+} -Ionen aus dem extrazellulären Raum stattfindet. Deshpande (1987) registrierte 48h nach 10min Ischämie einen signifikanten Anstieg der Ca^{2+} -Konzentration mit einem Maximum nach 72h im Bereich des CA1-Sektors.

In allen Versuchsgruppen dieser Studie war der Schädigungsgrad des CA1-Sektors ungefähr gleich; nur ca 15% der Pyramidenzellen überlebten den Insult.

Die Veränderungen waren somit **unabhängig** von:

- Dauer der Ischämie (15, 20min)
- Tod oder Überleben des Tieres
- Intensität der Laufaktivität
- postischämischem Gewichtsverlust
- Anfallsdisposition

Die Ergebnisse der eigenen Versuche zeigen also, daß das Ausmaß der Nervenzellschädigung im CA1-Sektor keinen Einfluß auf die untersuchten vitalen Aspekte nach einer Großhirnischämie hatte.

4.4.4.2. CA2-Sektor

Angaben über Nervenzellveränderungen in diesem Sektor nach Ischämie erscheinen widersprüchlich. Nach Collins (1986) zeichnet sich dieser Abschnitt zusammen mit den Körnerzellen des Gyrus dentatus durch eine Resistenz gegenüber ischämischen oder epileptischen Insulten aus. Andererseits sollen sichtbare Veränderungen in Form von zentraler Chromatolyse und exzentrischer Verlagerung des Zellkerns 6-12h nach einer 5min bilateralen Karotis-Okklusion (Kirino 1982; Suzuki 1983; Kemp 1987) bzw. 20h nach einer 15min dauernden, einseitigen Karotis-Ligatur beim Gerbil (Ito 1975) auftreten, die sich innerhalb einer Woche zurückbilden können. Die Ursache der unterschiedlichen Bewertung dieser als "reactive change" (Ito 1975; Bubis 1976) oder "selective chromatolysis" (Brown 1979) bezeichneten Veränderung liegt u.a. in einer unterschiedlichen anatomischen Definition der einzelnen Hippocampusabschnitte.

Nach Brown (1979) ist die laterale Konvexität des Neuronenbandes, als Teil des Sommerschen Sektors bzw. "H1", Ort des beschriebenen histologischen Bildes. Ito (1975) hingegen definiert diesen Abschnitt als "H3", während "H3" nach Brown (1979) als Teil von CA4 zwischen den beiden divergierenden Schenkeln des Gyrus dentatus liegt.

In der vorliegenden Arbeit ist der CA2-Sektor durch folgende morphologische Strukturen charakterisiert und begrenzt (Nadler 1981; Kirino 1984a; Collins 1986; Collins 1987):

- (1) Der Beginn als Anschluß des CA1-Sektors ist durch die größere Gestalt der Pyramidenzellen definiert. Die Breite des Neuronenbandes entspricht ungefähr der von CA1.
- (2) Das Ende ist durch die Verbreiterung und beginnende Konvexität des Bandes (CA3-Sektor) bei gleichbleibender Größe der Neurone definiert.

4.4.4.3 CA3-Sektor

Nach Ischämiezeiten von mehr als 10min dehnen sich die als "reactive change" bezeichneten Veränderungen auch auf den CA2-angrenzenden Bereich des CA3-Sektors aus (DeLeo 1987). Die Ausdehnung und Dynamik der Zellschädigung scheint dabei abhängig von der Dauer der Ischämie zu sein. Nach 20min Ischämie kam es zum Untergang fast aller Pyramidenzellen in den Sektoren CA1-4 (Kirino 1984a). Brown (1979)

hingegen konnte bei Ischämiezeiten zwischen 14-33min keine direkte Relation zwischen der Ischämiedauer und dem Schädigungsgrad in diesem Sektor feststellen, sondern sah in den dabei auftretenden epileptischen Anfällen während und nach der Okklusion einen wesentlichen pathogenetischen Faktor für die selektive Chromatolyse bzw. "reactive change".

Eine selektiv erhöhte Vulnerabilität der Sektoren CA3 und CA4 findet man auch bei anfallsbedingten Hirnschäden (Collins 1986). Experimentell lassen sich die Nervenzellschäden durch Kainat, einer glutamatanalogen Substanz hervorrufen. Ursprünglich wurde Kainat, das aus der Meeresalge "*Digenia simplex*" gewonnen wird, als Anthelminthikum verwendet.

Nach lokaler intraparenchymaler, intraventrikulärer oder systemischer Applikation von Kainat kommt es zur selektiven Zerstörung der Sektoren CA3 und 4 (Nadler 1980; Nadler 1981), wobei folgender Mechanismus diskutiert wird:

Kainat wirkt nicht direkt als toxisches Agens (Nadler 1981). Es aktiviert den speziellen, Kainat-affinen Subtyp eines Glutamaterezeptors A3, der in sehr hoher Dichte im synaptischen Bereich der Moosfasern ("mossy fibers") nachgewiesen wurde. Kainat induziert langanhaltende Membrandepolarisationen, die zu einer postsynaptischen Massenentladung, "burst firing", führen (Collins 1986). Dabei auftretende durch Zellschwellung erzeugte Membranschädigungen sind, ähnlich der Glutamat-induzierten Frühschädigung, im Prinzip reversibel. Das Fehlen eines spezifischen, zellulären Uptake-Mechanismus für Kainat verstärkt dessen exzitotoxische Wirkung (Mayer 1987).

4.4.4.4 CA2- und 3-Sektor

Aufgrund des gleichen Schädigungsmechanismus der Sektoren CA2 und 3 wurden beide Abschnitte für die histologische Auswertung folgendermaßen zusammengefaßt (s. a. Abb. 5):

- (1) CA2/3-Abschnitt: Er entspricht dem oben erwähnten Bezirk der "selektiven Chromatolyse" (Brown 1979).
- (2) CA3-Abschnitt: der lineare Anteil des Sektors.

Der signifikant höhere Untergang von Pyramidenzellen in diesen Sektoren bei Tieren, die nach der Ischämie starben, ist ein zentraler Befund. Da die postischämische Körpergewichtsentwicklung eine zuverlässige Prognose erlaubte, konnten erstmals bei Gerbils mit Großhirnischämie Hirnpräparate von moribunden Tieren vor Eintritt des

Todes angefertigt und mit Präparationen überlebender Tiere verglichen werden. Das Ausmaß der Nervenzellschädigung in diesen Sektoren hatte vermutlich direkte oder indirekte Bedeutung für das Überleben der Tiere nach Großhirnischämie, wie die signifikanten Korrelationen zwischen Neuronendichte einerseits und Todeszeitpunkt, Gewichtsverlust und postischämischer Aktivitätssteigerung andererseits zeigen.

Entsprechend den Beobachtungen von Ito (1975) und Kirino (1984a; 1984b) scheinen bislang eher unbekannte Faktoren in der frühen Reperfusionphase darüber zu entscheiden, ob initial geschädigte Zellen sich wieder erholen oder dem ischämischen Zelltod (ICC = Ischemic Cell Change) anheim fallen. Auf die Rolle einer exzessiven glutamatergen Nervenzellaktivierung und/oder Störungen der zellulären Glutamat-

Uptake-Mechanismen für den Untergang der Pyramidenzellen aller Sektoren sei in diesem Zusammenhang verwiesen (s. o.).

Die Bedeutung der Anfallsneigung der Gerbils für die Schädigung von Neuronen in den einzelnen Hippocampussektoren ist bislang ungeklärt. Brown (1979) sah einen engen Zusammenhang zwischen dem Schädigungsgrad und dem Auftreten von Anfällen während und nach Ischämie, während die Dauer des ischämischen Insults ohne Bedeutung schien. Dem stehen Untersuchungen von Cohn (1979) gegenüber, der bei Gerbils zeigen konnte, daß die während der Okklusion der Karotiden auftretenden Anfälle spinaler Herkunft und somit nicht für Veränderungen im Hippocampus verantwortlich zu machen sind.

Davon abgesehen waren die in den eigenen Untersuchungen auftretenden, postischämischen Anfälle nicht mit vermehrter Zellschädigung oder erhöhter Mortalität korreliert. Vielmehr hatten Tiere mit Anfallsdisposition eine signifikant bessere Überlebensrate nach Ischämie. Als Erklärung ließe sich eine erhöhte Toleranz der Nervenzellen gegenüber glutamaterger Exzitation während und nach der Ischämie vermuten. Dabei könnte eine veränderte Anzahl von Rezeptoren, ein effizienterer Uptake-Mechanismus, inhibitorische Transmitter (GABA) oder endogene Antagonisten, z.B. endogene Opiate (s.u.), eine protektive Rolle spielen.

4.5 PHYSISCHE AKTIVITÄT ALS PROTEKTIVER FAKTOR

Vermehrte physische Aktivität durch Haltung der Versuchstiere in Laufradkäfigen führte im verwendeten Modell zu einem fast vollständigen Schutz gegenüber den letalen Folgen einer Großhirnischämie. Die Mortalitätsrate nach 15min Ischämie konnte gegenüber der von Tieren in konventioneller Käfighaltung hochsignifikant gesenkt werden. Eine Verlängerung der Ischämiezeit auf 20min ging mit einer weiteren Reduk-

tion der Überlebensraten bei Käfigtieren einher, während Tiere in Laufkäfigen mehr oder weniger resistent gegenüber dem Insult waren. Beim Vergleich der Gewichtskurven und der histologisch ermittelten Neurondichte in den Hippocampussektoren muß dies unbedingt berücksichtigt werden.

Tiere, die den ischämischen Insult überlebten, hatten unabhängig davon, ob sie in Laufkäfigen gehalten wurden oder nicht, einen ähnlichen postischämischen Gewichtsverlauf mit entsprechendem histologischen Befund. Ebenso unterschieden sich die Gewichtsverläufe verstorbener Tiere aus Laufkäfigen nur wenig von moribunden Käfigtieren, jedoch können aufgrund der geringen Anzahl verstorbener Laufkäfigtiere keine statistisch abgesicherten Aussagen gemacht werden. Tendenziell war der tägliche Gewichtsverlust der moribunden Tiere in Laufkäfigen geringer, die Überlebenszeit verlängert.

Der Vergleich der Überlebensraten von Versuchsgruppen mit und ohne Laufkäfighaltung zeigt deutlich die hochsignifikante Protektion der motorischen Aktivität für das Überleben. Da nicht von allen Tieren und insbesondere nur von wenigen moribunden Gerbils die Gehirne für eine histologische Untersuchung zur Verfügung standen, läßt sich die Protektion der Nervenzellen im Hippocampus von Tieren in Laufkäfigen gegenüber Käfigtieren nicht als numerischer Faktor errechnen:

- (1) Überlebende Tiere beider Gruppen hatten in allen untersuchten Sektoren des Hippocampus einen ähnlichen Schädigungsgrad.
- (2) Bei moribunden Tieren war eine hochsignifikant größere Zahl von Nervenzellen des Hippocampus geschädigt.
- (3) Laufaktivität führte bei den Gerbils sowohl vor als auch nach Ischämie zu einem fast vollständigen Schutz vor den tödlichen Folgen einer zerebralen Ischämie von 15 oder 20min Dauer und somit zum Erhalt der Gehirne für weitergehende Untersuchungen. Für die histologische Untersuchung der Gehirne von Käfigtieren hingegen ging nur ein Anteil von maximal 43% nach 15min bzw. von 21% nach 20min Ischämie in die Bewertung ein. Ein Vergleich der überlebenden Tiere beider Gruppen ist deshalb nicht sinnvoll.
- (4) Es erscheint daher gerechtfertigt, von einer der verbesserten Überlebensrate proportionalen Protektion von Nervenzellen im Hippocampus bei Tieren in Laufkäfigen zu sprechen.

4.5.1 Physische Effekte vermehrter motorischer Aktivität

Viele experimentelle Untersuchungen zu diesem Thema sind mit Laufrädern durchgeführt worden. Bei der Beurteilung von endokrinologischen Faktoren bzw. Herzkreislaufparametern ist von großer Bedeutung, daß die im Versuch befindlichen Tiere kontinuierlichen und freien Zugang zur Lauftrommel haben, um streßbedingte Reaktionen durch die Manipulation am Tier zu vermeiden. Die Haltung von Nagern in konventionellen Macrolonkäfigen ist unphysiologisch, weil die Tiere bei unbegrenztem, hochwertigem Nahrungsangebot in ihrem Bewegungsbedürfnis stark eingeschränkt sind. Die Folge ist Übergewicht der Tiere mit einem ungünstigen Verhältnis zwischen Muskelmasse und Körperfett. Infolge der Fettsucht kann es zu metabolischen Störungen, wie z.B. einer verminderten Glukosetoleranz oder erhöhter Insulinresistenz und den damit verbundenen Folgeerscheinungen kommen. Körperliche Aktivität dagegen kann die Insulinsensivität um mehr als 30% steigern (Soman 1979). Laufradaktivität erhöht bei Ratten die Lebenserwartung, d.h. mehr Tiere einer Population erreichen ein hohes Alter, ohne daß jedoch die absolute Lebensspanne verlängert wird (Holloszy 1985). Körperliche Aktivität verbessert die Toleranz gegenüber Umweltstressoren, z.B. Kälte, extremer Höhe, aber auch Traumen und Schockzuständen. Dabei scheint ein trainiertes kardiopulmonales System und verbesserte Durchblutung der Muskulatur eine Rolle zu spielen. Unter dem Einfluß von körperlicher Aktivität kommt es zu einer erhöhten Kontraktilität des Myokards, zu einem vergrößerten Schlagvolumen und einer größeren kardialen Reserve, andererseits wird die Kapillarisierung der Muskulatur und damit der parenchymale Gasaustausch verbessert (Rattner 1979). Wiederholt erhöhte Plasma-Katecholaminspiegel, wie sie bei erhöhter physischer Aktivität gefunden werden (Gordon 1966; Brown 1979), führen zu einer abgeschwächten α - oder erhöhten β -adrenergen Rezeptorsensivität (Wiegman 1981) und damit zu einer allgemein herabgesetzten Reaktivität des sympathischen Nervensystems (Asoh 1983).

Die so verminderten vasokonstriktorischen und metabolischen Effekte von Katecholaminen im trainierten Organismus können zusammen mit den oben angeführten Faktoren tiefgreifend die periphere und zentrale Hämodynamik bei schweren Schockzuständen, z.B. nach Trauma, beeinflussen und die Sauerstoff- und Energieversorgung des gesamten Körpers verbessern. Ratten, die 3-7 Wochen in Laufkäfigen gehalten werden, haben nach definiertem Ganzkörpertrauma (Noble-Collip Drum; Noble 1942) eine signifikant bessere Überlebensrate als Tiere mit normaler Käfighaltung. Die Laufaktivität der Tiere war dabei sehr unterschiedlich. Der protektive Effekt war bei Tieren mit hoher Aktivität gegenüber inaktiven Lauftieren nur geringfügig vergrößert. Die Laufaktivität an sich stellte dabei - unabhängig von der Intensität - den wesentli-

chen protektiven Faktor dar (Asoh 1986).

Auch im Modell der zerebralen Ischämie bei Gerbils kann nicht ausgeschlossen werden, daß systemische Einflüsse dieser Art von Bedeutung waren. Zukünftige Untersuchungen mit diesem Modell, z.B. die Messung von Katecholaminspiegeln im Blut oder die Erfassung kardiopulmonaler Parameter könnten eine Beteiligung an der zerebralen Protektion klären.

Davon abgesehen fördert körperliche Aktivität die Fibrinolyse durch Freisetzung des Plasminogen-Aktivators (tPA) aus dem Endothel. Die Konzentration von ebenfalls aus Endothel freigesetztem Prostacyclins (PGI_2), ein Antagonist von vasokonstriktorisch aktiven und aggregationsfördernden Prostaglandinen wie von Thromboxan A_2 (TXA_2), steigt ebenfalls an. Durch körperliche Belastung wird das Prostacyclin-Thromboxan-Verhältnis in eine "antithrombotische" Richtung verschoben (Eichner 1984).

Bei Patienten, die einen Hirnschlag oder intermittierende ischämische Attacken des Gehirns (Transient Ischemic Attack) erlitten hatten, konnte ein protektiver Effekt einer antithrombotischen Therapie mit Aspirin gezeigt werden (Bousser 1983).

Neben zahlreichen systemischen Effekten der physischen Aktivität sind bei Versuchstieren auch Veränderungen des Hirnstoffwechsels nachgewiesen worden.

Motorische Aktivität in Laufkäfigen führte bei Ratten zu Veränderungen des Monoaminstoffwechsels im Gehirn. In den limbischen Strukturen und im Corpus striatum sinkt die Dopamin-Syntheserate während die Produktion von Noradrenalin im Hirnstamm ansteigt (Elam 1987). Dopaminerge Neurone im Striatum scheinen, wie Untersuchungen bei der Maus zeigen, eine Bedeutung für die Initiierung und Aufrechterhaltung von linearen Laufbewegung zu besitzen, wie sie für die Laufradaktivität notwendig sind (Calcagnetti 1987).

4.5.2 Endogene Opiate und physische Aktivität

Vermehrte körperliche Aktivität oder Stress gehen mit einer Freisetzung von endogenen Opiaten in die Blutbahn und im Hirngewebe bei Mensch und Tier einher (Fraïoli 1980; Carr 1981; Colt 1981; Farrell 1981; Christie 1981; Walker 1981; Amir 1982; Shyu 1982). Über die physiologische Funktion der Ausschüttung der endogenen Opiate β -Endorphin und Met-Enkephalin besteht bislang Unklarheit. Sie sollen u.a. eine Rolle bei der Aktivierung und Aufrechterhaltung von physischer Aktivität, bei der Dämpfung

von mit Stress oder Belastung verbundenen Mißempfindungen und bei der Regulation von diversen Körper- und Organfunktionen spielen (Potter 1983). Neben der schmerz-dämpfenden Funktion haben Endorphine Anteil an der Regulation von Atmung und Kreislauf, der endokrinen Sekretion, der Thermoregulation, Diurese und Futter- und Wasseraufnahme (Grossman 1985).

Die Tiere in Laufkäfigen unterschieden sich im experimentellen Protokoll von den Tieren mit Käfighaltung nur durch die Möglichkeit zu vermehrter motorischer Aktivität. Die in den eigenen Versuchen beobachtete bessere Überlebensrate durch Laufradtraining und die damit verbundene geringere Schädigung von Nervenzellen im Hippocampus legt die Frage nach einer opioid-vermittelten Protektion nahe. Im Rahmen dieser Arbeit sind keine eigenen Untersuchungen dazu durchgeführt worden. Die Bedeutung von körperlicher Aktivität als präventiver bzw. therapeutischer Faktor ist bei der zerebralen Ischämie bislang experimentell nicht untersucht worden. Aber es finden sich in der Literatur zahlreiche Einzelbeobachtungen, die für eine systemische oder zentrale Beteiligung von Opioiden an einer Protektion sprechen.

Beispielsweise erhöht die intraventrikuläre oder intravenöse Injektionen von endogenen Opioiden die Futter- und Wasseraufnahme (McKay 1981). Tokuyama (1982) registrierte bei Ratten in Laufradkäfigen eine höhere Gewichtszunahme mit positiver Korrelation zum Grad der Aktivität. Entsprechende Beobachtungen konnte Potter (1985) bei Hamstern machen. Die raschere postischämische Erholung des Körpergewichts bei Tieren in Laufkäfigen nach Ischämie gegenüber überlebenden Käfigtieren könnte mit einer aktivitätsbedingten Opioidstimulation der Futter- und Wasseraufnahme zusammenhängen.

Systemisch wird β -Endorphin zusammen mit Adrenocorticotropem Hormon (ACTH) aus einem gemeinsamen Vorläufer, Pro-Opiocortin, aus dem Hypophysenvorderlappen freigesetzt. Enkephalin hingegen, das strukturell in diesem Präkursormolekül enthalten ist, entsteht aus Pro-Metenkephalin, einem im Nebennierenmark gebildeten Präkursor, und wird zusammen mit Katecholaminen freigesetzt. Für beide Opioide sind Speicher im zentralen Nervensystem nachgewiesen worden (Grossman 1985). Endorphinerge Neurone wurden im Nucleus arcuatus des Hypothalamus gefunden, von wo aus Fasern in alle Teile des Gehirns verfolgt werden können. Met-Enkephalin wird aufgrund seiner Lokalisation in Interneuronen des Hypothalamus, der Basalganglien, des Rückenmarks und im Limbischen System eine Funktion als lokaler Neurotransmitter zugesprochen (Grossman 1985).

4.5.2.1 Intrahippocampale Lokalisation von Enkephalinen

Die Verteilung des Pentapeptids Met-Enkephalin innerhalb der einzelnen hippocampalen Sektoren ist ungleichmäßig. Hong (1981) fand in den Sektoren CA3/4 ungefähr doppelt so hohe Konzentrationen wie in den CA1 und 2 Sektoren. Enkephalin konnte lokal begrenzt in den terminalen Aufzweigungen der Moosfasern im Bereich der Pyramidenzellen der Sektoren CA3/4 und dem Stratum moleculare des CA1-Sektors nachgewiesen werden, nicht aber in den Somata von Nervenzellen des Hippocampus selbst (Roberts 1984).

Möglicherweise liegt Enkephalin dort in Form einer Vorstufe vor, die nicht mit den zum Nachweis verwendeten Antikörpern reagiert (Frederickson 1977). Enkephalin scheint im Hippocampus selbst gebildet zu werden; eine Unterbrechung aller hippocampalen Afferenzen blieb ohne Einfluß auf die lokale Konzentration (Thorne 1979). Das limbische System hat die höchste Dichte von Opiatrezeptoren im gesamten Gehirn. Die Lokalisation des Enkephalin-affinen δ -Rezeptors entspricht weitgehend der des Opioids selbst (Civelli 1987).

4.5.2.2 Neurophysiologische Funktion von Enkephalinen

Zahlreiche Untersuchungen konnten eine Wirkung von Enkephalinen auf mit spezifischen Opiatrezeptoren ausgestattete Nervenzellen im zentralen Nervensystem nachweisen. Enkephaline senken oder unterdrücken in der Mehrzahl der Fälle die spontane oder induzierte Aktivität von Nervenzellen in verschiedenen Arealen des Gehirns (Bradley 1976; Hill 1976; Zieglängsberger 1979a). In einzelnen hippocampalen Anteilen scheinen Enkephaline, u.U. durch die neuronale Verschaltung bedingt, gegensätzliche Effekte zu besitzen. Während von Körnerzellen des Gyrus dentatus eine allgemein dämpfende Aktivität registriert wurde (Tielen 1981), kam es bei den Pyramidalzellen des CA1-Sektors zur Aktivierung durch Inhibition von inhibierenden Interneuronen (Zieglängsberger 1979b). Das lokal streng begrenzte Vorkommen von Enkephalinen im Bereich der Endaufzweigungen der Moosfasern macht einen regulativen Einfluß dieser als inhibierende Neurotransmitter agierenden Opioide auf die Pyramidenzellen der CA2, 3 und 4-Sektoren wahrscheinlich. Unglücklicherweise haben sich Untersuchungen bislang nur auf den CA1-Sektor erstreckt (Roberts 1984). Enkephaline könnten einer Hyperaktivität der Pyramidenzellen durch exzessive Ausschüttung von exzitotoxischen Neurotransmittern wie Glutamat unter ischämischen Bedingungen entgegenwirken.

4.5.2.3 Enkephalinerge Neuroprotektion

Beobachtungen lassen vermuten, daß Enkephaline zusammen mit anderen Opioiden einen durch exzitatorische Neurotransmitter bedingten Na^+ -Einstrom in die Zelle an der postsynaptischen Membran beeinträchtigen (Zieglgänsberger 1976). Enkephaline könnten dadurch die osmotisch bedingte Frühschädigung von Nervenzellen, wie sie für CA1-Pyramidenzellen nach glutamaterger Aktivierung bzw. für Neurone des CA2/3 und 4-Sektors nach Applikation von Kainat beschrieben wurde (s. 4.4.4.3), verhindern. Untersuchungen mit synthetischen Opioiden weisen darauf hin, daß durch Aktivierung von Opiatrezeptoren die Glutamat-vermittelte Aktivierung des NMDA-Rezeptors und somit auch der Ca^{2+} -Einstrom in die Zelle antagonisiert werden kann (Goldberg 1987; Choi 1987).

4.5.2.4 Endogene Opiate und Krampfkaktivität

Eine intracerebrale Applikation von β -Endorphin führt bei Ratten zu einer ein-drucksvollen kataleptischen Starre (Bloom 1976). In kaltem Wasser zum Schwimmen gezwungene Mäuse, die also mit einer Streßsituation konfrontiert werden, zeigen ebenfalls eine kataleptische Starre. Dies kann durch den Opiatantagonisten Naloxon unterdrückt werden (Amir 1982). Die bei anfallsdispositionierten Gerbils beobachtete Starre am Ende einer spontanen Konvulsion wirft ebenfalls die Frage nach einer Beteiligung endogener Opiate auf. Unterschiedlich induzierte Krampfanfälle bei Ratten führen zu einem Anstieg des hippocampalen Enkephalingehaltes mit einem Maximum nach 2-4 Tagen und einer Dauer von ca 14 Tagen (Hong 1980). Die während des Anfalls freigesetzten Opiode scheinen eine wichtige Rolle bei der lokomotorischen Depression bzw. Starre nach einem Anfall zu spielen (Frenk 1976). Es ist denkbar, daß ein langfristiger Anstieg von Opiaten nicht nur an der postiktalen Katalepsie beteiligt ist. Die Tatsache, daß Gerbils nach einem Anfall eine bestimmte Zeit refrak-tär gegenüber neuen Stimuli sind bzw. bei häufiger Anfallsprovokation tolerant werden, wirft die Frage nach der Beteiligung von endogenen Opiaten auf. Ein erhöhter, intra-hippocampaler Enkephalin-Spiegel von anfallsdispositionierten Tieren könnte die geringere Mortalität dieser Untergruppe nach zerebraler Ischämie erklären.

4.6 HYPOTHESE EINER AKTIVITÄTSINDUZIERTEN, OPIOID-VERMITTELTEN PRO-TEKTION NACH ZEREBRALER ISCHÄMIE

Die Bedeutung physischer Aktivität als Schutzmechanismus wurde bisher für systemi-sche Belastungen wie Kälte, Unterdruck, extreme Höhe u.ä. sowie beim Polytraumen

(Asoh 1986) untersucht. Bislang gibt es keine Studien, die sich mit der protektiven Wirkung motorischer Aktivität bei einem zerebralen Insult beschäftigen.

Das in Abb. 64 dargestellte Schema ist ein Konzept möglicher, durch die körperliche Aktivität induzierter Schutzmechanismen, die bei einem ischämischen Insult einzeln oder synergistisch wirken. Das Schema ist eine Synthese aus einzelnen Beobachtungen, die sich einerseits mit den systemischen Effekten von physischer Aktivität oder andererseits mit der Bedeutung der unter diesen Umständen freigesetzten Opiode auf den Organismus beschäftigen.

4.6.1 Bedeutung der körperlichen Aktivität als prophylaktischer und therapeutischer Faktor

Wie in Abb. 64 angedeutet ist, kann erhöhte physische Aktivität zu einer positiven Beeinflussung von metabolischen, endokrinologischen, vaskulären und kardiopulmonären Parametern führen, die insgesamt in einer erhöhten Belastbarkeit resultierten. Die Aufzählung erhebt keinen Anspruch auf Vollständigkeit und stellt sicherlich nur einen Teil aller möglichen Komponenten dar. Im einzelnen lassen sich folgende Veränderungen postulieren, die zu einem erhöhten Schutz gegenüber den tödlichen Folgen einer zerebralen Ischämie führen:

- (1) Körperliche Aktivität bewirkt eine höhere Leistungsfähigkeit des Herz-Kreislaufsystems. Dies ist in der frühen postischämischen Reperusionsphase von herausragender Bedeutung. Gleichzeitig wird die Sensitivität des vegetativen Nervensystems gegenüber Katecholaminen herabgesetzt, so daß Schädigungen durch überschießende körperliche Reaktionen in Stressituationen, wie sie eine temporäre zerebrale Ischämie darstellt, vermieden werden. Da der systemischen Blutdruckregulation für die frühe Phase der zerebralen Reperfusion eine bedeutende Rolle zukommt, ist denkbar, daß Laufkäfigtiere nach Ende der Ischämie eine raschere Normalisierung der Hirnperfusion hatten bzw. eine weniger ausgeprägte postischämische Hypoperfusion des Gehirns. Erste Ergebnisse von Stummer (1988) deuten darauf hin, daß der systemische arterielle Mitteldruck während und bis zu 3 Stunden nach der Ischämie zwischen Käfigtieren und Lauftraktieren nicht unterschiedlich ist. Allerdings scheinen Tiere mit vermehrter physischer Aktivität in der postischämischen Phase eine bessere Reperfusion zu haben, wie Messungen des zerebralen Blutflusses mit Hilfe der Wasserstoff-Clearance-Technik zeigen. Parallel dazu konnte mit Hilfe von elektrischen Leitfähigkeitsmessungen des Hirngewebes bei Lauftraktieren eine früher einsetzende Reversion der intrazellulären Flüssigkeitsakkumulation in der frühen Reperusionsphase beobachtet werden. An der besseren Reperfusion bei Tieren mit Lauftraining könnte eine Verbesserung der Fibrinolyse und eine

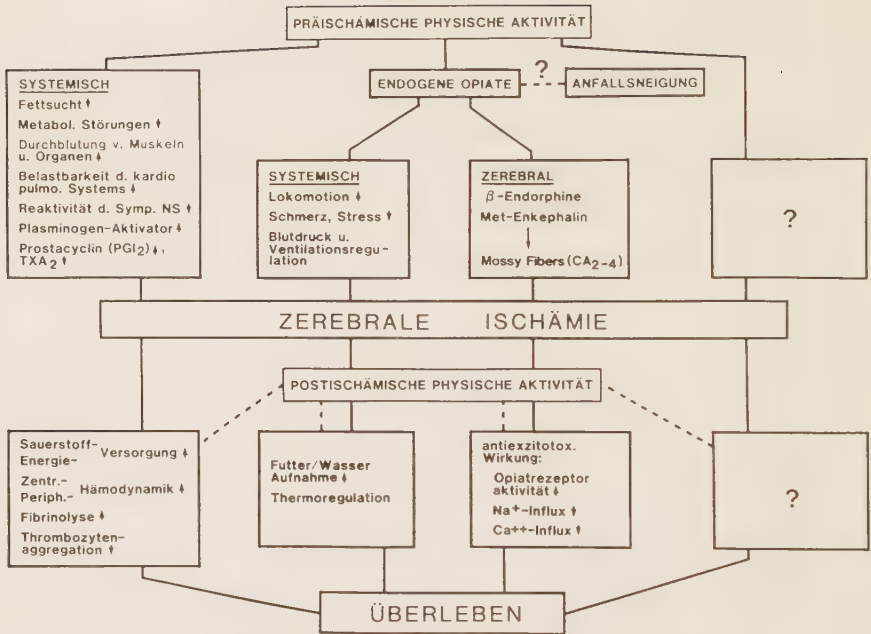


Abbildung 64:

Synopsis protektiver Mechanismen einer prä- und postischämischen, physischen Aktivität bei der zerebralen Ischämie.

Die aufgeführten Faktoren stellen eine Synthese dar aus einzelnen Beobachtungen verschiedener Arbeitsgruppen, die sich mit systemischen Effekten von körperlicher Aktivität bzw. der Bedeutung der unter diesen Umständen freigesetzten, endogenen Opiate beschäftigen.

Physische Aktivität führt einerseits zu systemischen Veränderungen, die mit einer besseren Leistungsfähigkeit und erhöhter Belastbarkeit verschiedener Organsysteme einhergehen. Darüber hinaus kommt es zur Freisetzung endogener Opiate, z.B. Endorphine und Enkephaline, die über spezifische Opiatrezeptoren systemische und zerebrale Vorgänge beeinflussen. Sekundäre Prozesse, die während der Ischämie auftreten oder durch diese initiiert werden, könnten dadurch gemildert oder verhindert werden. Das betrifft systemische wie zerebrale Vorgänge. Die Ergebnisse der Arbeit zeigen, daß die Wahrnehmung von körperlicher Aktivität selbst dann protektiv ist, wenn mit ihr erst nach der Ischämie begonnen wird. Die Aufzählung ist keinesfalls vollständig.

Prostacyclin-vermittelte Aggregationshemmung von Thrombozyten beteiligt sein.

- (2) Die rasche, während Aktivität (Amir 1982; Walker 1981) und unmittelbar danach erfolgende (Farrell 1985) Freisetzung von endogenen Opiaten kann ebenfalls an der Protektion beteiligt sein. Die Menge der freigesetzten Opiode war jedoch nicht mit der Intensität der Aktivität korreliert (Farrell 1985). Asoh (1986) konnte bei Ratten zeigen, daß nicht das Ausmaß der Laufaktivität, sondern die Aktivität selbst der wesentliche, protektive Faktor ist. Die Laufaktivität ermöglicht den Tieren eine Befriedigung ihres Bewegungsbedürfnisses. Andererseits führt die damit assoziierte Freisetzung endogener Opiate zu einer Dämpfung der Schmerz- und Stressempfindlichkeit sowie ihrerseits zu einer weiteren Steigerung der motorischen Aktivität im Sinne eines positiven Feed-back-Mechanismus. Dabei scheint auch eine positive Interaktion zwischen systemischen und zentralen opioid-vermittelten und nicht opioid-vermittelten Effekten möglich zu sein. Die inhibierende Wirkung von Met-Enkephalin auf die während und nach Ischämie auftretenden, exzessiven Entladungen von Nervenzellen ("burst firing") sowie die Lokalisation von Opiatrezeptoren im Bereich des Hippocampus spricht für eine Beteiligung endogener Opiate an der neurozellulären Protektion. Der hier gefundene therapeutische Effekt der Laufaktivität bei Gerbils, die erst nach Insult in Laufradkäfigen gehalten wurden, und die damit verbundene Nervenzellprotektion könnten sich ebenfalls mit der sehr rasch erfolgenden, intensitätsunabhängigen Freisetzung endogener Opiate erklären lassen. Da die irreversible Schädigung von Nervenzellen in selektiv vulnerablen Arealen des Hippocampus erst nach Latenz von mindestens 48h nach Ischämie eintritt, sollte selbst der Beginn einer Inhibition in der frühen postischämischen Phase noch protektiv sein. Die bessere Gewichtsentwicklung von Lauftieren nach Ischämie spricht für eine Beteiligung von Opioiden über die Stimulation der Freß- und Trinkaktivität.
- (3) Die große Variabilität der zerebralen Gefäßanatomie von Gerbils und die noch nicht endgültig geklärte Frage nach bestehenden funktionellen Verbindungen zwischen dem Gefäßsystem der A. carotis int. und den Vertebralarterien werfen die Frage nach einer unterschiedlich ausgeprägten Kollateralenbildung auf. Es könnte dadurch bei Tieren mit Kollateralen zu einer unvollkommenen Großhirn-Ischämie und damit zu einem geringeren ischämischen Schaden während des beidseitigen Karotisverschlusses gekommen sein. Gegen die Vermutung, daß eine vermehrte physische Aktivität zur Kollateralenbildung führt, spricht die Beobachtung, daß Tiere, die erst nach Ischämie Zugang zu Laufrädern hatten, eine signifikant bessere Überlebensrate hatten als Käfigtiere. Davon abgesehen konnte Stummer

(1988) mit Hilfe der Wasserstoff-Clearance-Technik während der Ischämie keine Unterschiede in der Absenkung des zerebralen Blutflusses im Cortex bei Lauf- oder reinen Käfigtieren beobachten.

Zukünftige Untersuchungen müssen die Mechanismen eines aktivitätsbedingten Schutzes gegenüber den Folgen einer zerebralen Ischämie klären. Im Vordergrund steht der Nachweis der Freisetzung von Opioiden und ihrer systemischen und zentralen Wirkung. Durch die Verwendung spezifischer Opiatantagonisten mit geringer intrinsischer Aktivität sowie durch histochemischen Nachweis von Opiaten in selektiv vulnerablen Arealen des Hippocampus könnte die Hypothese der opioid-vermittelten Protektion untersucht werden. Darüberhinaus könnten Akutversuche die Ursachen der unterschiedlichen Reperfusion des Gehirns in der frühen postischämischen Phase bei Laufratieren und Käfigtieren sowie Differenzen im zerebralen und systemischen Stoffwechsels (z.B. Prostaglandine, biogene Amine, Steroide) unter verschiedenen Haltungsbedingungen klären.

5. AUSBLICK

Der positive Einfluß der körperlichen Aktivität auf das Überleben nach zerebraler Ischämie durch bilaterale Karotis-Okklusion bei Gerbils wirft die Frage nach einer Bedeutung und Übertragbarkeit auf das Krankheitsbild des Hirnschlags beim Menschen auf. Die Tatsache, daß vermehrte motorische Aktivität in der vorliegenden Arbeit nicht nur als "präventive" Maßnahme, sondern auch therapeutisch nach dem ischämischen Insult zu einer hochsignifikant besseren Überlebensrate und zerebralen Protektion führte, wie sie - vielleicht von Barbituraten oder der Hypothermie abgesehen - kaum durch eine medikamentöse Therapie zu erreichen ist, macht weitere Anstrengungen lohnend, die zugrundeliegenden Mechanismen zu erforschen und zu verstehen.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Eine temporäre Großhirn-Ischämie von 15-20min Dauer durch reversible Okklusion der beiden Aa. carotis comm. bei der Mongolischen Wüstenrennmaus (*Meriones unguiculatus*) führt in der postischämischen Reperfusionsphase zu folgenden Befunden:

- (1) Bei allen Tieren war, vor allem während der ersten 48h, ein deutlicher Verlust an Körpermasse zu beobachten. Der Körpergewichtsverlust betrug am ersten Tag bei moribunden Tieren bis 18% und erlaubte bereits am 2.Tag nach der Ischämie eine sehr zuverlässige Prognose bezüglich des Überlebens eines Tieres (95% Vertrauensbereich). Bei moribunden Tieren war der Gewichtsverlust eng mit der Überlebensdauer korreliert ($r=0.84$, $p< 0.001$). Versuchsanordnungen mit Nahrungs- und Flüssigkeitsrestriktion zeigten, daß die postischämische Kachexie von moribunden Tieren durch eine Ischämie-induzierte Aphagie und Adipsie nicht alleine erklärt werden kann.
- (2) Das Nageverhalten, ein spezieistypisches Verhalten, erwies sich als zuverlässiger Parameter für das Überleben eines Tieres. Die Scheinoperation wie die Ischämie führten zu einer Unterbrechung dieser Aktivität. Das erneute Auftreten der Nageaktivität in der postischämischen Phase war mit dem Überleben der Tiere verbunden.
- (3) Die Ischämie führte bei Tieren in Laufradkäfigen zu hyperaktivem Verhalten und zu einer Verschiebung der zirkadianen Wach-Schlaf-Rhythmik in der postischämischen Phase. Das Aktivitätsmaximum zwischen dem 2.-5. Tag nach Ischämie war gegenüber der Kontrollaktivität um 400% erhöht ($p< 0.05$), anschließend kehrte die Laufaktivität innerhalb von 10 Tagen auf das Kontrollniveau zurück. Der Grad der postischämischen Aktivitätssteigerung war dabei direkt proportional zur quantitativen Schädigung hippocampaler Neuronen, v.a. in den Sektoren CA2 und 3. Eine Untergruppe hatte einen entgegengesetzten Aktivitätsverlauf. Während diese Tiere eine 600-1000% erhöhte Kontrollaktivität hatten, sank die Laufaktivität nach Ischämie initial auf 10% ab und blieb 50% unter dem Kontrollniveau, wobei die absolute Laufleistung dabei dem Aktivitätsmaximum der Restgruppe entsprach. Die beobachteten Verhaltensänderungen stehen in Einklang mit Befunden bei Gerbils nach Hippocampektomie.

- (4) Der Nervenzellschaden in den Sektoren CA1-3 des Hippocampus wurde mit Hilfe digitaler Bildverarbeitung durch quantitative Histologie bestimmt. Während die Tiere aller Gruppen einen Verlust von ca. 85% der Neurone im CA1-Sektor hatten, war der Untergang von Nervenzellen in den Sektoren CA2/3 und CA3 mit 85% und 80% bei moribunden Tieren gegenüber überlebenden Tieren mit 37% und 27% hochsignifikant vermehrt. Das Ausmaß der Zellschädigung in diesen Sektoren war mit dem kachektischen Gewichtsverlust, der Aktivitätssteigerung sowie bei moribunden Tieren mit der Überlebensdauer statistisch signifikant korreliert.
- (5) Gerbils mit Krampfneigung hatten nach Ischämie (15min) eine signifikant höhere Überlebensrate als anfallsfreie Tiere. Korrosionspräparate der arteriellen Gefäßversorgung des Gehirns gaben keine Hinweise auf einen bestehenden Kollateral-Kreislauf oder eine unterschiedliche, funktionelle Anastomosenbildung im Bereich des Circulus Willisi.
- (6) Der wichtigste Befund der vorliegenden Arbeit ist, daß die physische Aktivität im Laufrad eine effektive Protektion gegenüber den letalen Folgen des ischämischen Insults bei Gerbils gewährleistet. Nach 15min Ischämie war die Mortalität bei Laufradtieren mit 14% hochsignifikant geringer als bei Käfigtieren mit (45%, $p < 0.01$) oder ohne Krampfneigung (71%, $p < 0.01$). Eine Verlängerung der Ischämiedauer auf 20min führte bei Käfigtieren zur weiteren Erhöhung der Mortalität (i.e. 80%) und zu einem weiteren Nervenzelluntergang im Hippocampus sowohl bei moribunden wie überlebenden Tieren. Die Möglichkeit zum Laufen erwies sich gerade in dieser Gruppe als ein wirksamer Schutz gegen den Untergang selektiv vulnerabler Nervenzellen im CA2/3-Sektor und sicherte das Überleben der Tiere. In Versuchen mit Laufradexposition, entweder nur vor oder nur nach Ischämie konnte beides, eine präventive wie therapeutische Wirksamkeit gegen den ischämischen Insult des Gehirns durch körperliche Aktivität gesichert werden.

6. SUMMARY

Title: "Systemic and central changes after cerebral ischemia in Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*)"

A transient forebrain-ischemia of 15 or 20min by reversible bilateral occlusion of the common carotid artery in the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*) induced a number of pronounced changes in the postischemic period.

- (1) All animals demonstrated a remarkable loss of body weight, particularly during the first 48h of the reperfusion period. Moribund animals suffered from a loss of body weight up to 18% on the first day. Weight loss proved to be a reliable parameter for the prognosis of survival as soon as 2 days after the insult (95% confidence range) and was closely related to the length of survival in moribund gerbils ($r=0.84$, $p < 0.001$). The wasting of moribund animals was not only due to the ischemia-induced irreversible aphagia and transient adipisia, as could be demonstrated by experiments using different feeding protocols.
- (2) Paper-shredding as a species-specific behavior was an excellent indicator for survival. Sham-operation or ischemia caused an interruption of this activity. The onset of paper-shredding in the post-ischemic period was in every instance related to the survival of the animal, and could be correlated to the severity of weight loss and ischemic damage.
- (3) Forebrain-ischemia induced physical hyperactivity and a change of the circadian sleep/wake-rhythm in animals kept in wheel-running cages. Between day 2 and 5 running-activity was increased by 400% ($p < 0.05$) and returned to control values within 10 days after ischemia. The increase of activity was inversely related to the amount of preserved neurons, particularly in the CA2 and 3 sector. A subgroup of animals showed inverse changes of activity. Control values of running activity were elevated by 600-1000%. Postischemic running activity was decreased by 50%, minima initially scoring only 10% of control values. The behavioral changes are compatible with data from hippocampectomized gerbils.
- (4) Quantitative histology by digital image analysis was used to evaluate neuronal damage of the hippocampal sectors CA1-3. A loss of about 85% of the neurons in CA1 was observed in every animal. Destruction of neurons in CA2/3 and CA3 sectors with 85% and 80% was significantly more severe in moribund animals than

in surviving gerbils with a loss of 37% and 27%, respectively. The severity of neuronal damage could be related to the cachectic loss of body mass, to the increase of activity and to the duration of survival in moribund animals and was statistically significant.

- (5) Seizure-prone gerbils showed a significantly higher survival rate than seizure-free animals after 15min ischemia. No differences of collateral arterial blood supply or formation of anastomosis at the circle of Willis could be demonstrated by corrosion preparations of the arterial trunk under ischemic conditions.
- (6) The effective protection of physical activity from the lethal consequences of an ischemic injury after transient forebrain-ischemia in the gerbil is the most important finding of this thesis. After 15min ischemia, mortality in wheel-running animals with only 14% was significantly lower than in seizure-prone (45%, $p < 0.01$) or seizure-free (71%, $p < 0.01$) animals kept in conventional cages. The prolongation of the ischemic period to 20min led to a further increase of mortality and to an increased neuronal damage in hippocampus of both moribund and surviving gerbils kept in cages. Physical activity however, proved to be an effective protection from further damage of selective vulnerable neurons, thus preserving life. The efficiency of physical activity both as preventive and therapeutic means for the model of transient forebrain-ischemia in the gerbil could be demonstrated by experiments with exposition to running-wheels either before or after ischemia.

7. LITERATURVERZEICHNIS

Allen G. M., 1940:

The Mammals of China and Mongolia.

Part II, Volume XI. Natural History of Central Asia (Publication of the American Museum of Natural History), 781-785

Amir S., 1982:

Involvement of endogenous opioids with forced swimming-induced immobility in mice

Physiol. Behav., 28, 249-251

Amselgruber W., König H.E., 1987:

Vereinfachte Herstellung von Gefäßkorrosionspräparaten zur rasterelektronenmikroskopischen Untersuchung

Z. mikrosk.-anat. Forschung (Leipzig) 101, 523-531

Arai H., Passonneau J.V., Lust W.D., 1986:

Energy metabolism in delayed neuronal death of CA1 neurons of the hippocampus following transient ischemia in the gerbil

Metabolic Brain Disease, 1, 263-277

Araki H., Nojiri M., Kawashima K., Kimura M., Aihara H., 1986a:

Behavioral, electroencephalographic and histopathological studies on Mongolian gerbils with occluded common arteries

Physiol. Behav., 38, 89-94

Araki H., Uchiyama Y., Kawashima K., Aihara H., 1986b:

Impairment of memory and changes in neurotransmitters induced by basal forebrain lesions in rats

Japan. J. Pharmacol., 41, 497-504

Asoh T., Tsuji H., Shirasaka C., Takeuchi Y., 1983:

Effect of beta-receptor blockade on development of resistance to trauma in rats

Circ Shock, 11, 195-199

Asoh T., Takeuchi Y., Tsuji H., 1986:

Effect of voluntary exercise on resistance to trauma in rats

Circ Shock, 20, 259-267

Baethmann A., Oettinger W., Moritake K., Chaussy L., Jesh F., 1982:

Metabolic effects of corticosteroids in central nervous tissue.

In: Hartmann A., Brock M. (eds): Treatment of Cerebral Edema.

Berlin, Springer-Verlag, 1932, pp 24-30.

Benveniste H., Drejer J., Schousboe A., Diemer N.H., 1984:

Elevation of the extracellular concentrations of glutamate and aspartate in rat hippocampus during transient ischemia monitored by intracerebral microdialysis.

J. Neurochem., 43, 1369-1374

Berry K., Wisniewski H.M., Svarzbein L., Baez S., 1975:

On the relationship of brain vasculature to production of neurological deficit and morphological changes following acute unilateral common artery ligation in gerbils

J. neurol. Sci. 25, 75-92

Bloom F., Segal D., Ling N., Guillemin R., 1976:

Endorphins: profound behavioral effects in rats suggest new etiological factors in mental illness

Science, 194, 630-632

Bothe H.-W., Bosma H.-J., Hofer H., Hossmann K.-A., Angermaier W.F., 1986:

Selective vulnerability of hippocampus and disturbances of memory storage after mild unilateral ischemia of gerbil brain

Stroke, 17, 1160-1163

Boussier M.G., Eschwege E., Haguenau M., 1983:

"AICLA" controlled trial of aspirin and dipiridamole in the second prevention of arthero-thrombotic cerebral ischemia.

Stroke, 14, 5-22

Bradley P.B., Briggs I., Gayton R.J., Lambert L.A., 1976:

Effects of microiontophoretically applied methionine-enkephaline on single neurons in rat brainstem

Nature, 261, 425-426

Bratz E., 1899:

Ammonshornbefunde der Epileptischen

Arch. Psychiat., 31, 820-836

Brierley J.B., 1976:

Cerebral hypoxia

In: Blackwood W., Carsellis J.A.N. (eds.): Greenfield's neuropathology, 3rd edn. Arnold, London, 41-85

Brown A.W., Levy D.E., Kublik M., Harrow J., Plum F., Brierley J.B., 1979:

Selective chromatolysis of neurons in the gerbil brain: a possible consequence of "epileptic" activity produced by common carotid artery occlusion

Ann Neurol, 5, 127-138

Brown B.S., Payne T., Kim C., Moore G., Krebs P., Martin W., 1979a:

Chronic response of rat brain norepinephrine and serotonin levels to endurance training.

J Appl Physiol, 46, 19-23

Bubis J.J., Fujimoto T., Ito U., Mrsulja B.J., Spatz M., Klatzo I., 1976:

Experimental cerebral ischemia in Mongolian gerbils. V. Ultrastructural changes in H3 sector of the hippocampus

Acta Neuropathol. (Berl), 36, 284-294

Calcagnetti D.J., Flynn J.J., Margules D.L., 1987:

Opioid-induced linear running in obese (ob/ob) and lean mice

Pharmacol Biochem Behav, 26, 743-747

Carr D.B., Bullen B.A., Shrinar G.S., Arnold M.A., Rosenblatt M., Beitins I.Z., Martin J.B., McArthur J.W., 1981:

Physical conditioning facilitates the exercise-induced secretion of beta-endorphin and beta-lipoprotein in women.

N Engl J Med, 305, 560-562

Chiang J., Kowada M., Ames III A., Wright R.L., Majno G., 1968:

Cerebral Ischemia: III. Vascular Changes

Am. J. Path. 52, 455-476

Choi D.W., 1985:

Glutamate neurotoxicity in cortical cell cultures is calcium dependent
Neurosci. Lett., 58, 293-297

Choi D.W., 1987:
 Dextrorphan and dextromethorphan attenuate glutamate neurotoxicity
Brain Res., 403, 333-336

Christie J.J., Chesher G.B., Bird K.D., 1981:
 The correlation between swim stress-induced antinociception and [^3H]Leu-enkephalin binding to brain homogenates in mice
Pharmacol Biochem Behav. 15, 853-857

Civelli O., Machida C., Bunzow J., Albert P., Hanneman E., Salon J., Bidlack J., Grandy D., 1987:
 The next frontier in the molecular biology of the opioid system. The opioid receptors
Molecular Neurobiol., 1, 373-391

Coggeshall R.E., MacLean P.D., 1958:
 Hippocampal lesions following administration of 3-acetylpyridine.(24152)
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 98, 687-689

Cohn R., 1979:
 Convulsive activity in gerbils subjected to cerebral ischemia.
Exp. Neurol., 65, 391-397

Collins R.C., Posner J., Plum F., 1970:
 Cerebral energy metabolism during electroshock seizures in mice.
Am. J. Physiol., 218, 943-950

Collins R.C., Olney J.W., 1982:
 Focal cortical seizures cause distant thalamic lesions.
Science, 218, 177-179

Collins R.C., 1986:
 Selective vulnerability of brain: New insights from the excitatory synapse
Metabolic Brain Disease, 1, 231-240

Collins R.C., 1987:

Neurotoxins and the selective vulnerability of brain.

In: Jenner P.G. (ed.): Neurotoxins and Their Pharmacological Implications

Raven Press, New York, 1-17

Colt E.W.D., Wardlaw S.L., Frantz A.G., 1981:

The effect of running on plasma β -endorphin.

Life Sci, 28, 1637-1640

Cox B., Lomax P., 1976:

Brain amines and spontaneous epileptic seizures in the Mongolian gerbil

Pharmac Biochem Behav, 4, 263-267

DeLeo J., Toth L., Schubert P., Rudolphi K., Kreutzberg G.W., 1987:

Ischemia-induced neuronal cell death, calcium accumulation, and glial response in the hippocampus of the Mongolian gerbil and protection by Propentofylline (HWA 285)

J. Cerebr. Blood Flow Metabol., 7, 745-751

Dempsey R.J., Combs D.J., Maley M.E., Cowen D.E., Roy M.W., Donaldson D.L., 1987:

Moderate hypothermia reduces postischemic edema development and leukotriene production

Neurosurgery, 21, 177-181

Deshpande J.K., Siesjö B.K., Wieloch T., 1987:

Calcium accumulation and neuronal damage in the rat hippocampus following cerebral ischemia

J. Cerebr. Blood Flow Metabol., 7, 89-95

Donadio M.F., Kozlowski P.B., Kaplan H., Wisniewski H.M., Majkowski J., 1982:

Brain vasculature and induced ischemia in seizure-prone and non-seizure-prone gerbils

Brain Res., 234, 263-273

Douglas R.J., Isaacson R.L., 1964:

Hippocampal lesions and activity

Psychon. Sci., 1, 187-188

Du Bois M., Bowman P.D., Goldstein G.W., 1985:

Cell proliferation after ischemic infarction in gerbil brain

Brain Res., 347, 245-252

Dubois B, Mayo W., Agid Y., Le Moal M., Simon H., 1985:

Profound disturbances of spontaneous and learned behaviors following lesions of the nucleus basalis magnocellularis in the rat

Brain Res., 338, 249-258

Duffy T.E., Howse D.C., Plum F., 1975:

Cerebral energy metabolism during experimental status epilepticus.

J. Neurochem., 24, 925-934

Dunstone J.J., Krupski G.M., Weiss C.S., 1971:

Weight loss in gerbils (*Meriones unguiculatus*) continuously deprived of food, water, and both food and water

Psychol. Reports, 29, 931-936

Eder T., Riederer P., Rausch W.D., Kruczik P., 1982:

Effects of anticonvulsive drugs on epileptic convulsions on Mongolian gerbils induced by enviromental stimulus

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 321, Suppl. 1, R45

Eichner E., 1984:

Platelets, carotids and coronaries. Critique on antithrombotic role of antiplatelet agents, exercise, and certain diets.

Am J Med, 77, 513-523

Elam M., Svensson T.H., Thoren P., 1987:

Brain monoamine metabolism is altered in rats following spontaneous, long-distance running

Acta Physiol Scand, 130, 313-316

Farrell R.A., Cates W.K., Maksud M.G., 1981:

Plasma β -endorphin/ β -lipoprotein immunoreactivity increase after treadmill exercise in man.

Med Sci Sport Exerc, 13, 134A

Farrell R.A., 1985:

Exercise and endorphins- male responses

Med Sci Sports Exerc, 17, 89-93

Fraioi F., Moretti C., Paolucci D., Alicicio E., Crescenci F., Fortinio G., 1980:

Physical exercise stimulates marked concomitant release of β -endorphin and adrenocorticotrophic hormone (ACTH) in peripheral blood in man.

Experientia, 36, 987-989

Frederickson R.C.A., 1977

Enkephalin pentapeptides- a review of current evidence for a physiological role in vertebrate neurotransmission

Life Sci., 21, 23-42

Frenk H., Engel J., Ackermann R., Shavit Y., Liebeskind J.C., 1979:

Endogenous opioids may mediate post-ictal behavioral depression in amygdaloid-kindled rats

Brain Res., 167, 435-440

Frerichs K.:

Dissertation (in Vorbereitung)

Med. Fakultät, Ludwig-Maximilians-Universität München

Fujisawa A., Matsumoto M., Matsuyama T., Ueda H., Wanaka A., Yoneda S., Kimura K., Kamada T., 1986:

The effect of the calcium antagonist Nimodipine on the gerbil model of experimental cerebral ischemia

Stroke, 17, 748-752

Gadisseux P., Ward D.J., Young H., Becker D.P., 1984:

Nutrition and the neurosurgical patient

J Neurosurg, 60, 219-232

Garcia J.H., 1975:

The neuropathology of stroke.

Hum. Path., 6, 583-598

Garcia J.H., Conger K.A., Lossinsky A.S., 1983:

The cellular pathology of ischemic stroke

In: Cellular pathology of human disease

Gustav Fischer New York, Inc., 351-367

Glickman S.E., Hartz K.E., 1964:

Exploratory behavior in several species of rodents

J. comp. physiol. Psychol., 58, 101-104

Glickman S.E., Fried L., Morrison B.A., 1967:

Shredding of nesting material in the Mongolian gerbil

Perceptual and Motor Skills 24, 473-474

Glickman S.E., Higgins T.J., Isaacson L., 1970:

Some effects of hippocampal lesions on the behavior of Mongolian gerbils

Physiol Behav, 5, 931-938

Goldberg M.P., Pham P., Choi D.W., 1987:

Dextrorphan and dextromethorphan attenuate hypoxic injury in neuronal culture

Neurosci. Lett., 80, 11-15

Goldblatt D., 1968:

Seizure disorder in gerbils

Neurology 18, 303-304

Goldblatt D., Konow A., Shouldson I., Mac Math T., 1971:

Effect of anticonvulsants on seizures in gerbils.

Meeting fo the American Academy of Neurology, New York

Gordan G., 1956:

Influence of steroids on cerebral metabolism in man.

Pincus G. (ed): Recent Progress in Hormone Research ,

Academic Press, New York, Vol. 12, 153-174

Gordon R., Spector S., Sjoerdsma A., Udenfriend S., 1966:

Increased synthesis of norepinephrine and epinephrine in the intact rat during exercise and exposure to cold.

J Pharmacol Exp Ther, 153, 440-447

Green J.D., 1964:

The Hippocampus

Physiological Reviews, 44, 561-608

Griffiths T., Evans M.C., Meldrum B.S., 1984:

Status epilepticus: the reversibility of calcium loading and acute neuronal pathological changes in the rat hippocampus.

Neurosci., 12, 557-567

Grossman A., Sutton J.R., 1985:

Endorphins: What are they ? How are they measured ? What is their role in exercise ?

Med Sci Sports Exerc, 17, 74-81

Haider W., Benzer H., Krystof G., Lackner F., Mayrhofer O., Steinbereithner K., Irsigler K., Korn A., Schlick W., Binder H., Gerstenbrand F., 1975:

Urinary catecholamine excretion and thyroid hormone blood levels in the course of severe acute brain damage.

Eur J Intensive Care Med, 1, 115-123

Harriman A.E., 1969:

Food and water requirements of Mongolian gerbils as determined through self-selection diet

Am. Midl. Nat., 82, 149-156

Harrison M.J.G., Brownbill D., Lewis P.D., Russell R.W.R., 1973:

Cerebral edema following carotid artery ligation in gerbil.

Arch. Neurol., 28, 389-391

Hill R.G., Pepper C.M., Mitchell J.F., 1976:

Depression of nociceptive and other neurons in the brain by iontophoretically applied met-enkephalin.

Nature, 262, 604-606

Holloszy J.O., Smith E.K., Vining M., Adams S., 1985:

Effect on voluntary exercise on longevity of rats

J. Appl. Physiol., 59, 826-831

Hong J., Wood P.L., Gillin J.C., Yang H.Y.T., Costa E., 1980:
Changes of hippocampal met-enkephalin content after recurrent motor seizures
Nature, 285, 231-232

Hong J., Schmid R., 1981:
Intrahippocampal distribution of Met⁵-enkephalin
Brain Res., 205; 415-418

Hossmann K.A., Paschen W., Csiba L., 1983:
Relationship between calcium accumulation and recovery of cat brain after
prolonged cerebral ischemia
J. Cereb. Blood Flow Metabol., 3, 346-353

Hudson J.W., 1964:
Water metabolism in desert mammals.
M.J. Wayner (ed.): Thirst. New York: Macmillan

Imdahl A., Hossmann K.-A., 1986:
Morphometric evaluation of post-ischemic capillary perfusion in selectively
vulnerable areas of gerbil brain
Acta Neuropathol (Berl), 69: 267-271

Ingvar M., Soderfeldt B., Folbergrova J., Kalimo H., Olsson Y., Siesjö B.K., 1984:
Metabolic, circulatory and structural alterations in the rat brain induced by
sustained pentylenetetrazole seizures.
Epilepsia, 25, 191-204

Ito U., Spatz M., Walker J.T. Jr., Klatzo I., 1975:
Experimental cerebral ischemia in Mongolian gerbils. I. Light microscopic obser-
vations
Acta Neuropathol.(Berlin), 32, 209-223

Jarrard L.E., 1968:
Behavior of hippocampal lesioned rats in home cage and novel situations
Physiol. Behav., 3, 65-70

Jarrard L.E., Bunnell B.N., 1968a:

Open-field behavior of hippocampal-lesioned rats and hamsters

J. comp. physiol. Psychol., 66, 500-502

Jarrott, D.M., Domer F.R., 1980:

A gerbil model of cerebral ischemia suitable for drug evaluation

Stroke, 11, 203-209

Kaada B.R., Rasmussen E.W., Kveim O., 1961:

Effects of hippocampal lesions on maze learning and retention in rats.

Exp. Neurol., 3, 333-355

Kadar T., Varszegi M., Sudakov S.K., Penke B., Telegdy G., 1984:

Changes in brain monoamine levels of rats during cholecystokinin octapeptide-induced suppression of feeding

Pharmacol. Biochem. Behav., 21, 339-344

Kahn K., 1972:

The natural course of experimental cerebral infarction in the gerbil

Neurology 22, 510-515

Kaplan H., Mieczeski Ch., 1972:

Development of seizures in the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*)

J. Comp. Physiol. Psychol. 81, 267-273

Katzman R., Clasen R., Klatzo I., Meyer J.S., Pappius H.M., Waltz A.G., 1977:

IV. Brain edema in stroke.

Stroke, 8, 512-540

Kaufman H.H., Bretauiere J.-P., Rowlands B.J., Stein D.K., Bernstein D.P.,

Wagner K.A., Gildenberg P.L., 1987:

General metabolism in head injury

Neurosurgery, 20, 254-265

Kemp J.A., Foster A.C., Gill R., Woodruff G.N., 1987:

MK-801, NMDA receptors and ischemia induced neurodegeneration

TIPS, 8, 414-415

Kempski O., 1985: persönliche Mitteilung

Kempski O., Shohami E., von Lubitz D., Hallenbeck J.M., Feuerstein G., 1987:

Postischemic Production of Eicosanoids in Gerbil Brain

Stroke 18, 111-119

Kim C., 1960:

Nest building, general activity, and salt preference of rats following hippocampal ablation

J. comp. physiol. Psychol., 53, 11-16

Kimble D.P., 1963:

The effects of bilateral hippocampal lesions in rats

J. comp. physiol. Psychol., 56, 273-283

Kimble D.P., Coover G.D., 1966:

Effects of hippocampal lesions on food and water consumption in rats

Psychon. Sci., 4, 91-92

Kirino T., 1982:

Delayed neuronal death in the gerbil hippocampus following ischemia

Brain Res., 239, 57-69

Kirino T., Sano K., 1984a:

Selektive vulnerability in the gerbil hippocampus following transient ischemia

Acta Neuropathol., 62, 201-208

Kirino T., Sano K., 1984b:

Fine structural nature of delayed neuronal death following ischemia in the gerbil hippocampus

Acta Neuropathol., 62, 209-218

Leaton R.N., 1965:

Exploratory behavior in rats with hippocampal lesions

J. comp. physiol. Psychol., 59, 325-330

Levine S., Payan H., 1966:

Effects of ischemia and other procedures on the brain and retina of the ger-

bil (*Meriones unguiculatus*).

Exp. Neurol., 16, 255-262

Levine S., Sohn D., 1969:

Cerebral ischemia in infant and adult gerbils. Relation to incomplete circle of Willis

Arch. Path. 87 315-317

Levy D.E., Brierley J.B., 1974:

Communications between vertebro-basilar and carotid arterial circulations in the gerbil

Exp. Neurol. 45, 503-508

Levy D.E., Brierley J.B., Silverman D.G., Plum F., 1975:

Brief hypoxia-ischemia initially damages cerebral neurons.

Arch. Neurol., 32, 450-456

Lindsley D.B., Scheriner L.H., Knowles M.S., Magoun H.W., 1950:

Behavioral and EEG changes following chronic brainstem lesions in the cat.

Electroenceph. clin. Neurophysiol., 2, 483-498

Lo Conte G., Bartolini L., Casamenti F., Marconcini-Pepeu I., Pepeu G., 1982:

Lesions of cholinergic forebrain nuclei: changes in avoidance behavior and scopolamine actions

Pharmacol Biochem Behav, 17, 933-937

Lodge D., O'Shaughnessy C.T., Zeman S., 1986:

Reduction of ischemia-induced brain damage and of glutamate-induced calcium uptake by subanesthetic concentrations of ketamine

Neurosci. Lett. Suppl., 24, 535

Loskota W.J., Lomax P., Rich S.T., 1972:

The gerbil as a model for the study of epilepsy: Seizure habituation and seizure patterns

Proc. West. Pharmacol. Soc. 15, 189-194

Loskota W.J., Lomax P., Rich S.T., 1974:

The gerbil as a model for the study of the epilepsies

Epilepsia 15, 109-119

Loskota W.J., Lomax P., Verity M.A., 1974a:

A stereotaxic atlas of the Mongolian gerbil brain (*Meriones unguiculatus*).

Ann Arbor Science, Ann Arbor

Loskota W.J., Lomax P., 1975:

The Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*) as a model for the study of the epilepsies: EEG records of seizures.

Electroenceph. Clin. Neurophysiol., 38, 597-604

Ma S.W.Y., Foster D.O., 1986:

Starvation-induced changes in metabolic rate, blood flow, and regional energy expenditure in rats

Can. J. Physiol. Pharmacol., 64, 1252-1258

Marcoux F.W., Goodrich J.E., Probert A.W., Dominick M.A., 1987:

Ketamine prevents glutamate-induced calcium influx and ischemic nerve cell injury

In: σ -opioid Phencyclidine-like compounds as molecular probes in biology

University of Michigan, Ann Arbor, Mi, June 29th -July 2nd

Mason J.W., 1958:

The central nervous system regulation of ACTH secretion.

In: Jasper H.H., Boston (ed.): Reticular Formation of the Brain

Little, Brown, 645-662

Matsumoto M., Kimura K., Fujisawa A., Matsuyama T., Asai T., Uyama O., Yoneda S., Abe H., 1982:

Regional blood flows measured in the Mongolian gerbil by a modified microsphere method

Am. J. Physiol. 242 (Heart Circ. Physiol. 11): H990-H995

Matsuyama T., Matsumoto M., Fujisawa A., Handa N., Tanaka K., Yoneda S., Kimura K., Abe H., 1983:

Why are infant gerbils more resistant than adults to cerebral infarction after carotid ligation ?

J Cereb Blood Flow Metabol 3, 381-385

Mayer M.L., Westbrook G.L., 1987:

Cellular mechanisms underlying excitotoxicity

TINS, 10, 59-61

McGeer-Russell S.M., Brown A.W., Brierley J.B., 1970:

A combined light and electron microscope study of early anoxic-ischemic cell change in rat brain

Brain Res., 20, 193-200

McGraw C.P., Pashayan A.B., Wendel O.T., 1976:

Cerebral infarction in the Mongolian gerbil exacerbated by Phenoxybenzamine treatment

Stroke, 7, 485-488

McKay L.D., Kenney N.J., Edens N.K., Williams R.H., Woods S.C., 1981:

Intracerebroventricular beta-endorphin increases food intake of rats.

Life Sci, 29, 1429-1434

McManus J.J., 1972:

Water relations and food consumption of the Mongolian gerbil, *Meriones unguiculatus*

Comp. Biochem. Physiol., 43A, 959-967

Michaelis E.K., 1979:

The glutamate-receptor-like protein of brain synaptic membranes is a metallo-protein

Biochem. Biophys. Res. Comm., 87, 106-113

Nadler J.V., Perry B.W., Cotman C.W., 1980:

Selective reinnervation of hippocampal area CA1 and the fascia dentata after destruction of CA3-CA4 afferents with kainic acid

Brain Res., 182, 1-9

Nadler J.V., Evenson D.A., Smith E.M., 1981:

Evidence from lesion studies for epileptogenic and non-epileptogenic neurotoxic interactions between kainic acid and excitatory innervation

Brain Res., 205, 405-410

Niki H., 1962:

The effects of hippocampal ablation on the behavior in the rat

Jap. Psychol. Res., 4, 139-153

Noble R.L., Collip J.b., 1942:

A quantitative method for the production of experimental traumatic shock without haemorrhage in unanaesthetized animals

Quart. J. Exp. Physiol., 31, 187-199

Olney J.W., 1969:

Glutamate-induced retinal degeneration in neonatal mice. Electron microscopy of the acutely evolving lesion.

J. Neuropath. Exp. Neurol., 28, 455-74

Olney J.W., Ho O.L., Rhee V., 1971:

Cytotoxic effects of acidic and sulphur-containing amino acids on the infant mouse central nervous system

Exp. Brain Res., 14, 61-76

Olney J.W., 1978:

Neurotoxicity of excitatory amino acids.

In: E.G. McGeer, J.W. Olney, and P.L. McGeer (eds.): Kainic acid as a tool in neurobiology, Raven, New York, 95-121

Olney J.W., Price M.T., Fuller T.A., Labruyere J., Samson L., Carpenter M., Mahan K., 1986:

The anti-excitotoxic effects of certain anesthetics, analgesics and sedative-hypnotics

Neurosci. Lett., 68, 29-34

Payan H.M., Conard J.R., 1977:

Carotid ligation in gerbils. Influence of age, sex, and gonads.

Stroke, 8, 194-196

Petito C.K., Pulsinelli W.A., 1984:

Delayed neuronal recovery and neuronal death in rat hippocampus following severe cerebral ischemia: possible relationship to abnormalities in neuronal

processes.

J. Cereb. Blood Flow Metabol., 4, 194-205

Petito C.K., 1986:

Experimental models of cerebral ischemia

In: Kriegstein J. (ed.): Pharmacology of cerebral ischemia

Elsevier Science Publishers B.V. (Biomedical Division), 111-117

Pfeiffer R.A., 1940:

Die angioarchitektonischen Areale. Gliederung der Großhirnrinde.

Thieme, Leipzig

Pfleger L., 1880:

Beobachtungen über Schrumpfung und Sklerose des Ammonshorns bei Epilepsie

Allg. Z. Psychiat., 36, 359-365

Poeck K., 1977:

Neurologie

Springer Berlin, Heidelberg, New York

Potter C.D., Borer K.T., Katz R J., 1983:

Opiate-receptor blockade reduces voluntary running but not self-stimulation in hamsters

Pharmacol Biochem Behav, 18, 217-223

Pulsinelli W.A., Brierley J.B., 1979:

A new method of bilateral hemispheric ischemia in the unanesthetized rat

Stroke, 10, 267-272

Rattner B.A., Gruenau S.T., Altland P.D., 1979:

Cross-adaptive effects of cold, hypoxia, or physical training on decompression sickness in mice

J. Appl. Physiol., 47, 412-417

Reynierse J.H., Scavio M.J., Spanier D., 1970:

Interaction of hunger and thirst in Mongolian gerbils

J. comp. physiol. Psychol., 70, 126-135

Roberts G.W., Woodhams P.L., Polak J.M., Crow T.J., 1984:
Distribution of neuropeptides in the limbic system of the rat:
The hippocampus
Neurosci., 11, 35-77

Roberts W.W., Dember W.N., Brodwick M., 1962:
Alternation and exploration in rats with hippocampal lesions.
J. comp. physiol. Psychol., 55, 695-700

Robinson P.F., 1959:
Metabolism of the gerbil, *Meriones unguiculatus*.
Science, 130, 502-503

Rothman S.M., 1983:
Synaptic activity mediates death of hypoxic neurons.
Science, 220, 536-537

Rothman S.M., 1985:
The neurotoxicity of excitatory amino acids is produced by passive chloride influx.
Neurosci., 5, 1483-1489

Rothman S.M., Olney J.W., 1987:
Excitotoxicity and the NMDA receptor
TINS, 10, 299-302

Ruhren R., 1965:
Normal values for hemoglobin concentration and cellular elements in the blood of Mongolian gerbils
Lab Animal Care, 15, 313-320

Sachs L., 1984:
Angewandte Statistik
Springer-Verlag, Berlin

Sakamoto N., Kogure K., Kato H., Ohtomo H., 1986:
Disturbed Ca^{2+} homeostasis in the gerbil hippocampus following brief transient ischemia

Brain Res., 364, 372-376

Schanne F.A.X., Kane A.B., Young E.E., Farber J.L., 1975:

Calcium dependence of toxic cell death: A final common pathway
Science, 206, 700-702

Schonfeld A. R., Glick S.D., 1979:

Cerebrovascular abnormalities associated with seizure susceptibility in the Mongolian gerbil
Brain Res., 173, 147-151

Schwentker V., 1963:

The gerbil, a new laboratory animal.
Illinois Veterinarian, 6, 5-9

Seaman R.N., Seaman S.L., Sun A.Y., 1977:

Some neurochemical correlates in seizure prone gerbils
Society for Neuroscience, 3, S145

Seiferle E., 1975:

Lehrbuch der Anatomie der Haustiere. Band IV.

Nickel R., Schummer A., Seiferle E., (eds.): Verlag Paul Parey, Hamburg und Berlin

Seregi A., Förstermann U., Hertting G., 1984:

Decreased levels of brain cyclo-oxygenase products as a possible cause of increased seizure susceptibility in convulsion-prone gerbils
Brain Res., 305, 393-395

Shyu B.C., Andersson S.A., Thoren P., 1982:

Endorphin-mediated increase in pain threshold induced by long-lasting exercise in rats
Life Sci, 30, 833-840

Silverstein F.S., Buchanan K., Johnston M.V., 1986:

Perinatal hypoxia-ischemia disrupts striatal high-affinity [^3H]glutamate uptake into synaptosomes
J. Neurochem., 47, 1614-1629

Simon R.P., Swan J.H., Griffiths T., Meldrum B.S., 1984:

Blockade of N-methyl-D-aspartate receptors may protect against ischemic damage in brain.

Science, 226, 850-852

Simon R.P., Griffiths T., Evans M.C., Swan J.H., Meldrum B.S., 1984a:

Calcium overload in selectively vulnerable neurons of the hippocampus during and after ischemia: An electron microscopy study in the rat

J. Cereb. Blood Flow Metabol., 4, 350-361

Smialek M., Klatzo I., Spatz M., 1979:

The therapeutic effect on experimental cerebral ischemia in Mongolian gerbils

In: Cerebral vascular disease 2: Meyer J.S., Lechner H., Reivich M. (eds.), Excerpta Medica, Amsterdam-Oxford, 186-192

Soman V.R., Koivisto V.A., Deibert D., Felig P., DeFronzo R.A., 1979:

Increased insulin sensitivity and insulin binding to monocytes after physical training.

N Engl J Med, 301, 1200-1204

Sommer W., 1880:

Erkrankungen des Ammonshorns als aetiologisches Moment der Epilepsie

Arch. Psychiat., 10, 631-675

Spielmeyer W., 1925:

Zur Pathogenese örtlich elektiver Gehirnveränderungen.

Z. Gesamte Neurol. Psychiatr., 99, 756-776

Stevens R., Cowey A., 1973:

Effects of dorsal and ventral hippocampal lesions on spontaneous alternation, learned alternation and probability learning in rats.

Brain Res., 52, 203-224

Stummer W., 1988:

Dissertation (in Vorbereitung)

Med. Fakultät, Ludwig-Maximilians-Universität München

- Susic V., Masirevic G., 1986:
Sleep patterns in the Mongolian gerbil, *Meriones unguiculatus*
Physiol Behav 37, 257-261
- Suzuki R., Yamaguchi T., Li C.L., Klatzo I., 1983:
The effects of 5-minute ischemia in Mongolian gerbils: II. Changes of spontaneous neuronal activity in cerebral cortex and CA1 sector of hippocampus.
Acta Neuropathol. (Berl), 60, 217-222
- Takeshita H., Okuda Y., Sari A., 1972:
Effects of ketamine on cerebral circulation and metabolism in man
Anesthesiology, 36, 69-75
- Teitelbaum H., Milner P., 1963:
Activity changes following partial hippocampal lesions in rats.
J. comp. physiol. Psychol., 56, 284-289
- Thiessen D.D., Lindzey G., Friend H.C., 1968:
Spontaneous seizures in the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*)
Psychon. Sci. 11 (7), 227-228
- Thilmann R., Xie Y., Kleihues P., Kiessling M., 1986:
Persistent inhibition of protein synthesis precedes delayed neuronal death in postischemic gerbil hippocampus
Acta Neuropathol. (Berl), 71, 88-93
- Thorne D.R., Scheff S.W., Hand D., Elde R., Cotman C.W., 1979:
Immuno-histochemical visualization of enkephalin and cholecystochinin fibers in hippocampus following selective denervation.
Neurosci. Abstr., 5
- Tielen A.M., Lopes da Silva F.H., Mollevanger W.J., de Jonge F.H., 1981:
Differential effects of enkephalin within hippocampal areas
Exp Brain Res, 44, 343-346
- Tokuyama K., Saito M., Okuda H., 1982:
Effects of wheel running on food intake and weight gain of male and female rats

Physiol Behav, 28, 899-903

UFAW (The Universities Federation for Animal Welfare), 1972:
Handbook on the Care and Management of Laboratory Animals.
Edinburg: Churchill Livingstone

Vander Weele D.A., Tellish J.A., 1971:
Adipsic to polydipsic shift in gerbils induced by food deprivation
Psychol. Reports, 29, 479-486

Van Harreveld A., Fifkova E., 1971:
Light- and electron microscopic changes in central nervous tissue after electro-
phoretic injection of glutamate
Exp. Mol. Pathol., 15, 61-81

Vogt C., Vogt O., 1925:
Der Begriff der Pathoklise
J Psychol Neurol, 31, 245

Volpe B.T., Pulsinelli W.A., Tribuna J., Davis H.P., 1984:
Behavioral performance of rats following transient forebrain ischemia
Stroke, 15, 558-562

Walker J.M., Berntson G.G., Paulucci T.S., Champney T.C., 1981:
Blockade of endogenous opiates reduces activity in the rat
Pharmacol Biochem Behav, 14, 113-116

Wexler B.C., Saroff J., 1970a:
Metabolic changes in response to acute cerebral ischemia following unilateral
carotidartery ligation in arteriosclerotic versus nonarteriosclerotic rats
Stroke, 1, 38-51

Wexler B.C., 1970b:
Metabolic changes in response to acute cerebral ischemia following bilateral
carotidartery ligation in arteriosclerotic versus nonarteriosclerotic rats
Stroke, 1, 112-121

Wexler B.C., 1972:

Pathophysiological responses to acute cerebral ischemia in the gerbil
Stroke, 3, 1-78

Wiegman D.L., Harris P.D., Joshua I.G., Miller F.N., 1981:
Decreased vascular sensitivity to norepinephrine following exercise training
J Appl Physiol, 51,282-287

Winkelman J.R., Getz L.L., 1962:
Water balance in the Mongolian gerbil
Journal of Mammology, 43, 150-154

Yoshida S., Inoh S., Asano T., Sano K., Shimasaki H., Ueta N., 1983:
Brain free fatty acids, edema, and mortality in gerbils subjected to transient,
bilateral ischemia, and effect of barbiturate anesthesia
J. Neurochem., 40, 1278-1286

Zieglgänsberger W.E., Bayerl H., 1976:
The mechanism of inhibition of neuronal activity by opiates in the spinal cord
of cat
Brain Res., 115, 111-128

Zieglgänsberger W.E., Tulloch F., 1979a:
The effects of methionine- and leucine-enkephalin on spinal neurons of cat.
Brain Res., 167, 53-64

Zieglgänsberger W.E., French E.D., Siggins G.R., Bloom F.E., 1979b:
Opioid peptides may excite hippocampal pyramidal neurons by inhibiting adja-
cent inhibitory interneurons.
Science, 205, 415-417

ABSCHLIEßENDE BEMERKUNG

Die Experimente der vorliegenden Arbeit wurden am Institut für Chirurgische Forschung der Ludwig-Maximilians-Universität München in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. A. Baethmann 1986-1988 durchgeführt. Während dieser Zeit wurde mir ein Stipendium "Zur Förderung des wissenschaftlichen und künstlerischen Nachwuchs" gewährt.

Sehr herzlich möchte ich mich bei den Assistentinnen unseres "Teams", Hilde Fuderer und Ulrike Goerke bedanken, die mir unermüdlich bei der Durchführung von Versuchen und dem Erstellen von Bildmaterial geholfen haben. Die umfangreiche histologische Untersuchung wäre ohne Hilde Fuderer nicht durchführbar gewesen.

Die Begeisterung für neurophysiologische und -pathophysiologische Fragestellungen, vor allem im Bereich der zerebralen Ischämie, verdanke ich Prof. Kempksi. Unter seiner Anleitung lernte ich wissenschaftliches Arbeiten von der Versuchsplanung bis hin zur Auswertung und kritischen Interpretation von Ergebnissen. Ihm verdanke ich erste bescheidene Kenntnisse und wachsendes Interesse an der Datenverarbeitung in der Experimentellen Medizin.

Besonders bedanken möchte ich mich bei Prof. Baethmann. Nur Dank seiner Hilfe war es möglich, das sehr umfangreiche Thema dieser Dissertation in der zu Verfügung stehenden Zeit bearbeiten zu können. Er führte mich in die Welt der Wissenschaft ein, er lehrte mich nicht nur kritisches, konstruktives Denken, sondern auch Gedanken verständlich umzusetzen in Wort und Bild.

Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. W. Brendel möchte ich ganz besonders für die freundliche Aufnahme an seinem Institut danken. Den Geist und die Atmosphäre des Institutes als Doktorand erfahren und genossen haben zu dürfen, verdanke ich ihm.

Tiefsten Dank empfinde ich gegenüber Herrn Prof. Dr. E. Dahme, Institut für Allgemeine Pathologie und Neuropathologie der Tiermedizinischen Fakultät der Universität München, der sich bereit erklärte, mein Dissertationsthema an der Fakultät zu vertreten. Seiner unermüdlichen Hilfe und Geduld verdanke ich die rechtzeitige Fertigstellung der Arbeit.

Lebenslauf

Name: Kai-Olav Weber

Geburtsdatum: 22. September 1959

Geburtsort: Augsburg

Eltern: Gisela und Hermann Weber

1966-69: Grundschule Hedelfingen und Grundschule Altbach

1969-78: Gymnasium Plochingen

1978-79: Grundwehrdienst im FAB 101, Pfullendorf

1979-85: Studium der Tiermedizin an der Universität München

1986: Approbation als Tierarzt

Seit 1986: Doktorand und Stipendiat am Institut für Chirurgische Forschung der Universität München

Seit 1989: Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Pharmakologie und Toxikologie des Fachbereichs Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin



